

ITEA

PRODUCCIÓN ANIMAL

**Asociación
Interprofesional
para el Desarrollo
Agrario**

Vol. 100A N.º 3



ITEA

Información Técnica Económica Agraria
Revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario
www.aida-itea.org

2004 - AÑO XXXV Vol. 100A N.º 3	DIRECCIÓN Y REDACCIÓN Montañana, 930- Apartado 727 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA) Tel.: 34-976 716335 Fax.: 34-976 716335 E-mail: jmarin@eead.csic.es andreu@eead.csic.es cmmarin@aragob.es	Depósito legal: Z-577-82 ISSN: 1130-6009 INO Reproducciones, S.A. Polígono Miguel Servet, nave 13 50013 Zaragoza
------------------------------------	--	--

COMITÉ DE REDACCIÓN

DIRECTOR: Juan A. Marín Velázquez
SUBDIRECTOR: Joaquín Uriarte Abad
EDITORES: Pilar Andreu Puyal
Clara M.ª Marín Alcalá
VOCALÉS: José Luis Alabart Álvarez
Pere Alberti Lasalle
José Álvarez Álvarez
Rafael Delfa Belenguer
Joaquín Gómez Aparisi
Azucena Gracia Royo
Marisol Luis Arteaga
Emilio Manrique Persiva
Eduardo Notivol Paño
M.ª Dolores Quílez Sáez de Viteri

Prohibida toda reproducción total o parcial sin autorización expresa
de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario, Editor Titular del Copyright.

ITEA no se responsabiliza necesariamente con las opiniones vertidas en los artículos firmados
que publica, cuya responsabilidad corresponde a sus autores.

Suscripciones y Distribución

Información Técnica Económica Agraria publica cuatro números por volumen.

El precio de la suscripción para 2005 será de 30 €.

Se acepta el intercambio con otras revistas.

ITEA. Apartado 727. 50080 Zaragoza (ESPAÑA)

AVISO IMPORTANTE

ITEA, Información Técnica Económica Agraria, va a entrar en una nueva etapa para tratar de aumentar su difusión y asegurar su permanencia como un vehículo esencial de comunicación en lengua española de la información técnica agraria. A partir del primer número del próximo año 2005 dos cambios fundamentales tendrán lugar: por una parte, las dos series ITEA producción vegetal e ITEA producción animal se fusionarán en una sola revista que mantendrá su nombre original ITEA, y por otra, cambiará la frecuencia de aparición pasando de tres números por serie a cuatro números (uno por trimestre) en la nueva revista. Aprovechando esta circunstancia publicaremos la revista con una nueva presentación con el fin de hacerla más atractiva y fácil de leer, pero estos cambios importantes no van a suponer cambios en su contenido ni en su gestión editorial. ITEA seguirá siendo una revista de divulgación de la información científica en forma de artículos originales revisados anónimamente por especialistas en las materias de que traten para asegurar la calidad e importancia de la información publicada.

La situación del mundo técnico y científico obliga a los autores a presentar el resultado de su trabajo para su reconocimiento en revistas valoradas internacionalmente, no por su idioma, sino por otros factores que aseguren su calidad. Eso ha ocasionado que el valor de sus artículos publicados en revistas que, como ITEA, no están incluidas en los índices de impacto, no sea reconocido para concursos de promoción personal o consecución de plazas. Sin embargo, nuestra revista reúne todos los criterios exigidos para poder ser incluida en los índices de información científica, gracias a la labor realizada durante su existencia por los sucesivos comités de redacción, excepto el criterio que depende menos de su comité editorial, la recepción de originales en número suficiente que asegure la aparición de la revista con puntualidad. Al contrario que otras revistas que han optado por cambiar el idioma de publicación, ITEA reconoce la validez de la lengua española como medio de comunicación científica y técnica, y ahora más que nunca, con la incorporación de los países americanos de habla hispana que, cada vez en mayor número, participan activamente contribuyendo con sus trabajos a la revista.

La vocación de ITEA es ser reconocida internacionalmente y estar incluida en sus índices de información científica, y para eso esperamos seguir contando con la colaboración de sus lectores y de los autores, para poder seguir ofreciendo el servicio de ser un medio de comunicación técnica, y para poder seguir publicando con garantía la calidad de la información. Ese es el carácter que nos diferencia de las otras revistas que, o bien no disponen de mecanismos de revisión de sus publicaciones, o bien se expresan en otro idioma que hace inaccesible la información a un gran número de personas interesadas profesionalmente y que no dominan otra lengua.

Con la confianza de que los cambios comentados tendrán un efecto estimulante tanto en los autores como en los lectores de la revista, saludamos desde aquí a todos ellos deseando los mejores deseos para el año que comienza.

El director y las editoras de ITEA

EDITORIAL

Entre los días 7 y 9 de julio de 2004 se ha celebrado en las instalaciones de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (Arucas), la XII edición de la Reunión Nacional de Mejora Genética Animal, a la que asistieron medio centenar de profesionales dedicados a la Mejora Genética pertenecientes a una treintena de instituciones españolas entre Universidades, Institutos y Centros de Investigación, etc., y de otras nacionalidades como Francia o Estados Unidos.

Como viene siendo habitual en estas jornadas, se dio una seña de identidad al evento y que en esta ocasión recayó en el tratamiento de los QTLs, la canalización de la varianza ambiental, y la acuicultura. Más de un centenar de autores presentaron un total de treinta trabajos entre ponencias, comunicaciones orales y póster, los cuales fueron expuestos en sesiones de mañana. Durante las sesiones de tarde, se realizaron visitas guiadas al Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM), perteneciente al Gobierno Autónomo de Canarias, y a la explotación de peces Alevines y Doradas S.A. (ADSA). En el ICCM se asistió al proceso de cultivo de especies como la dorada, la lubina, el bocinegro, el pulpo y la almeja canaria, mientras que en ADSA, la industria más importante dedicada engorde de peces en las Islas Canarias, se pudo apreciar el proceso de engorde, sacrificio y empaquetado de la dorada y la lubina a escala industrial.

La primera jornada se dedicó a los QTLs, a través de la ponencia realizada por M.A. Pérez-Enciso titulada *Del QTL al gen*, quien revisó la metodología para el tratamiento de los QTLs, y además se defendieron diversos estudios de QTLs de interés en ganados porcino (G. Muñoz, J. Noguera, C. Rodríguez y M. Rauw) y ovino (A. Legarra, J. Altarriba y E. Bonnet). La segunda jornada se inició con la ponencia defendida por L. Bodin sobre *Homogeneización genética de un carácter*, que versó sobre la canalización de la varianza ambiental del peso al nacimiento en gazapos, siendo continuada con otros trabajos de canalización (N. Ibáñez) y estima de parámetros genéticos en conejos (M. Piles), comparación de modelos y factores de bayes (L. Varona y L. García Cortés, respectivamente), estimas de parámetros (O. González-Recio y E. López) y costes de mamitis en ganado vacuno de leche (E. Pérez-Cabal), modelos de correlación entre efectos asociados a marcadores (W. Mekkawy), determinismo genético en porcino (R. Quintanilla), para concluir con evaluación del crecimiento en merino (A. Menéndez). Finalmente, en la tercera jornada se presentó la ponencia denominada *Importancia de la nutrición en la reproducción de peces* a cargo de

M. Izquierdo, donde se hizo especial hincapié en la relevancia de los ácidos grasos en la dieta de reproductores de peces, se continuó con el control de la consanguinidad (J. Fernández) y la estima de heredabilidades en peces (N. Astorga). También se presentaron trabajos sobre la resistencia a la tricostrongilidosis en la raza churra (J. Arranz), y de variabilidad genética en conejo (M. Merchán), ovino (J. Morán), poni céltico (L. Royo) y peces (V. Oliva), así como de comparación del desequilibrio de ligamiento dentro de familia y poblacional (L. Raya) y sistemas de marcaje en peces (A. Navarro). La reunión se cerró con la exposición de métodos de sexado en pollitos de 1 día (J. Campo).

La clausura estuvo a cargo del profesor Baselga, quien hizo un recorrido histórico de las Jornadas de Mejora Genética Animal sobre la figura del profesor Orozco, y el Vicerrector de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria Antonio Fernández.

Agradecer a todas aquellas personas que han hecho posible la realización del congreso, así como a las instituciones que han financiado parcialmente el evento (Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y Dirección General de Universidades del Gobierno de Canarias) y a la redacción de la revista ITEA por acoger la difusión de las comunicaciones del congreso.

Juan Manuel Afonso López

Coordinador de las XII Reunión Nacional de Mejora Genética Animal

ÍNDICE

	Página
A. LEGARRA, E. UGARTE, I. BELTRÁN DE HEREDIA.- Análisis de asociación entre genotipos de PrP y producción de leche en la raza latxa	127
A. MENÉNDEZ BUXADERA, M. VALERA, J.M. SERRADILLA, A. MOLINA.- Evaluación del crecimiento en los primeros tres meses de edad en Merino español mediante el uso de regresiones aleatorias	134
A. NAVARRO, V. OLIVA, M.J. ZAMORANO, R. GINÉS, J.M. AFONSO.- Evaluación del sistema de marcaje PIT (<i>passive integrated transponder</i>) en alevines de dorada (<i>Sparus auratus</i> L.)	141
C. RODRÍGUEZ, A. TOMÁS, M. ARQUÉ, C. BARRAGÁN, O. RAMÍREZ, L. VARONA, E. ALVES, M. AMILLS, J.L. NOGUERA.- Identificación de QTL sobre número de manas en un cruce experimental F2 ibérico X Meishan	146
E. BONNET, J.M. ELSÉN, Z.G. VITEZICA, L. BODIN.- Estudio de asociación entre el gen PrP y la fertilidad de machos de la raza Lacauene	151
E. LÓPEZ DE MATURANA, A. LEGARRA, E. UGARTE.- Estudio de la relación genética entre los caracteres facilidad de parto materna y fertilidad de la hembra en el ganado vacuno lechero de la CAPV	156
G. MUÑOZ, C. ÓVILLO, L. SILIÓ, A. FERNÁNDEZ, C. RODRÍGUEZ.- Identificación de polimorfismos en el gen del receptor de estrógenos 1 (ESR1) y estudio de asociación del ESR1 y ESR2 sobre el tamaño de camada en una línea sintética de cerdos	167
H. GARREAU, G. BOLET, J. HURTAUD, C. LARZUL, C. ROBERT-GRANIÉ, M. ROS, G. SALEIL, M. SANCRISTOBAL, L. BODIN.- Homogeneización genética de un carácter. Resultados preliminares de una selección canalizante sobre el peso al nacimiento de los gazapos	172
J. ALTARRIBA, C. MORENO, C. DÍAZ, M. SERRANO.- Consecuencias de la selección para resistencia genética a Scrapie sobre la estructura del genoma en desequilibrio gamético con el gen PRNP	179
J. FERNÁNDEZ, L. VEGA, M.A. TORO.- Control de la consanguinidad en programas de selección en acuicultura	188
J.A. MORÁN, J.J. ARRANZ, F. SAN PRIMITIVO.- Análisis de la variabilidad de la región de transmembrana del gen del receptor de la hormona de crecimiento ovina	192
J.J. ARRANZ, J. PÉREZ, M.F. EL ZAREI, B. GUTIÉRREZ-GIL, L.F. DE LA FUENTE, L. ÁLVAREZ, Y. BAYÓN, F. SAN PRIMITIVO, F.A. ROJO-VÁZQUEZ.- Búsqueda de regiones genómicas con influencia sobre la resistencia a las tricostrongilosis en el ganado ovino de raza churra	197
J.L. CAMPO, M.G. GIL, S.G. DÁVILA, I. MUÑOZ.- Determinación del sexo en pollitos de 1 día	102
J.L. NOGUERA, G. MUÑOZ, A. TOMÁS, L. VARONA, C. BARRAGÁN, O. RAMÍREZ, M. ARQUÉ, C. RODRÍGUEZ, A. SÁNCHEZ.- Resultados preliminares de un experimento F2 en cerdos para detectar QTL con efectos en la prolificidad	206
L.J. ROYO, I. ÁLVAREZ, I. FERNÁNDEZ, J.P. GUTIÉRREZ, J.L. MARTÍNEZ, E. GÓMEZ, F. GOYACHE.- Análisis preliminar de las secuencias del citocromo B y ARNr12s en dos poblaciones de poni céltico de Asturias	212
R.W. PONZONI, A. HAMZAH, N. KAMARUZZAMAN.- Selection for live weight in the gift strain of Nile Tilapia (<i>oreochromis niloticus</i>)	217
L. GÓMEZ RAYA.- Testaje del desequilibrio de ligamiento poblacional versus el desequilibrio dentro de familias utilizando familias de medios hermanos	227
L.VARONA.- Métodos de comparación de modelos: Un estudio de simulación	230

M. MERCHÁN, R. PEIRÓ, J. ESTELLÉ, Y. SASTRE, M.A. SANTACREU, J.M. FOLCH.— Análisis de los genes candidatos de la oviductina, uteroglobina y receptor de progesterona en dos líneas divergentes seleccionadas por capacidad uterina en conejo	234
M. PILES, O. RAFEL, J. RAMON, L. VARONA.— Parámetros genéticos de la fertilidad en dos líneas de conejo de diferente aptitud	238
M.A. PÉREZ-CABAL, M.T. FERNÁNDEZ-PEREA, R. ALIENDA.— Costes de mamitis en vacuno de leche	244
M. PÉREZ-ENCISO.— Del QTL al gen	249
N. ASTORGA, M.J. ZAMORANO, M.A. TORO, L.A. GARCÍA CORTÉS, D. MONTERO, J.M. AFONSO.— Heredabilidad del carácter presencia o ausencia de deformaciones esqueléticas en dorada (<i>Sparus aurata</i> L.).	256
N. IBÁÑEZ, D. SORENSEN, R. WAAGEPETERSEN, A. BLASCO.— Estudio de canalización en un experimento de selección divergente en conejo	261
O. GONZÁLEZ-RECIO, L.A. GARCÍA-CORTÉS, R. ALIENDA.— Estimación de componentes de varianza para caracteres binarios de fertilidad en el vacuno de leche	267
R. QUINTANILLA, L. VARONA, J.L. NOGUERA.— Análisis bayesiano sobre el determinismo genético de la tasa de crecimiento de las pezuñas en porcino	272
V. OLIVA, M.J. ZAMORANO, A. NAVARRO, R. GINÉS, N. ASTORGA, J.M. AFONSO.— Utilización de marcadores microsatélites intraespecíficos e interespecíficos en poblaciones naturales de dorada	276
W. MEKKAWY, A. BLASCO, L. VARONA.— Comparación entre distintos modelos de correlación entre efectos asociados a marcadores	281
W.M. RAUW, O. PORTOLÉS, J. SOLER, J. REIXACH, J.M. PRAT CUFFI, I. DÍAZ, L. GÓMEZ RAYA.— Preliminary results on the relationship between cholesterol and triglyceride serum levels and body weight around weaning in pigs	284
M. Izquierdo, H. Fernández-Palacios.— Importancia de la nutrición en la reproducción de peces	289

ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN ENTRE GENOTIPOS DE PrP Y PRODUCCIÓN DE LECHE EN LA RAZA LATXA

A. Legarra, E. Ugarte, I. Beltrán de Heredia

NEIKER, A.B. Instituto vasco de investigación y desarrollo
agrario. Apdo. 46, 01080, Vitoria-Gasteiz, España
Correo electrónico: alegarra@neiker.net

Introducción

El prurigo lumbar o “scrapie” es una enfermedad neurodegenerativa que afecta a la especie ovina. Aunque descrita desde hace más de 200 años y con baja relevancia económica en la cabaña, en los últimos años el prurigo lumbar ha tomado importancia por su posible relación con la encefalopatía espongiiforme bovina, habiéndose especulado con la existencia de un riesgo para el hombre.

Asimismo se conoce que, a diferencia del vacuno, existe un parcial determinismo genético en la sensibilidad a la enfermedad (Díaz *et al.*, 2001). Dicho determinismo está basado en la existencia de diferentes alelos del gen PrP, que codifica para la proteína prión y es precisamente una forma anómala de esta proteína la responsable de dicha enfermedad. Las formas alélicas más comunes se dan por polimorfismos en los codones 136, 154 y 171, en las que se encuentran las variantes A (alanina) y V(valina), R (arginina) y H (histidina), y Q (glutamina), R y H respectivamente. Se ha demostrado la existencia de alelos que confieren resistencia a la enfermedad (alelo ARR), alta susceptibilidad (VRQ) o simplemente susceptibilidad (el resto). Por esta razón, el comité científico de la Unión Europea recomienda la selección genética para aumentar la frecuencia del alelo ARR con el objetivo de incrementar el número de animales resistentes a prurigo

lumbar. En este sentido, se prevé que, en España, el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación emita un Real Decreto.

En este marco, se ha hecho necesario para los diferentes esquemas de selección existentes en ovino analizar las posibles consecuencias que tendría dentro de los mismos la introducción de este aspecto. Dichas consecuencias son básicamente tres: (1) Pérdida de variabilidad genética. (2) Descenso en la intensidad de selección y por tanto del progreso genético para caracteres productivos. Ambos aspectos vendrían derivados de la necesidad de restringir como animales candidatos a selección a aquellos que fueran portadores de alelos ARR. La tercera consecuencia (3) sería un hipotético cambio en el carácter de interés, por selección correlacionada, debido a una asociación (causal o de ligamiento) entre el gen de la PrP y algún gen o genes responsables del carácter de interés.

En este trabajo se aborda esta última cuestión. El objetivo es analizar la posible asociación entre el gen del PrP y la producción lechera como carácter objeto de selección en el esquema de mejora de la raza Latxa, para sus diferentes ecotipos de Latxa Cara Negra en la Comunidad Autónoma Vasca (LCN-CAPV), Latxa Cara Negra de Navarra (LCN-NA) y Latxa Cara Rubia (LCR), que siguen esquemas de selección diferenciados.

Material

En la raza Latxa, hasta la actualidad, se han genotipado para el gen de la PrP aproximadamente unos tres mil animales. Las frecuencias genotípicas y alélicas de dichos animales se presentan en el cuadro 1. Se aprecia que el genotipo ARQ/ARQ con una frecuencia en torno al 50% y el alelo ARQ (entre 67-70%) son los más presentes en los diferentes ecotipos. La baja frecuencia del alelo ARR, y por tanto la mayor dificultad de su selección, hace más necesario aún la determinación de si existe una asociación y por este motivo se planteó un diseño expe-

rimental mediante genotipado selectivo para estudiar la posible asociación entre la producción de leche y el gen de la PrP.

Dicho genotipado se realizó intentando minimizar los gastos de genotipado, como se encuentra descrito en ALFONSO (2002). Así, se diseñó un muestreo de 100 hembras de cada una de las colas de alto, medio y bajo valor genético a las que tomar una muestra de sangre para la posterior extracción del ADN. Sin embargo, existieron dificultades en la toma de muestra y el número de animales efectivamente muestreados fue inferior, especialmente en los grupos de medio y bajo nivel productivo,

Cuadro 1. Número de animales genotipados y frecuencias genotípicas y alélicas para el gen de la PrP en los diferentes ecotipos de la raza Latxa

Genotipo/Alelo	LCN-CAPV	LCN-NA	LCR
Nº de animales genotipados	1804	844	1802
Machos	612	391	489
Hembras	1192	453	1313
AHQ/AHQ			0,06
AHQ/ARH	0,06		
ARH/ARH			0,17
ARH/VRQ	0,28		0,83
ARQ/AHQ	1,72		0,39
ARQ/ARH	3,55	4,98	11,82
ARQ/ARQ	47,89	47,87	44,12
ARQ/VHQ	0,06		
ARQ/VRQ	2,99	0,36	4,50
ARR/AHQ	0,83	0,12	0,11
ARR/ARH	1,05	2,13	3,72
ARR/ARQ	35,09	36,37	28,97
ARR/ARR	5,49	7,94	4,27
ARR/VRQ	0,83	0,24	1,00
VRQ/VRQ	0,17		0,06
AHQ	1,30	0,06	0,31
ARH	2,47	3,55	8,35
ARQ	69,60	68,72	66,95
ARR	24,39	27,37	21,17
VHQ	0,03		
VRQ	2,22	0,30	3,22

debido principalmente a que dichos animales fueron eliminados de los rebaños. También se observó que la dispersión de hembras de bajo valor genético era mucho mayor, es decir, se encontraban en un gran número de rebaños diferentes, lo que dificultó la recogida de muestras. El número de animales efectivamente muestreados y

genotipados para cada nivel de producción, así como el valor genético medio de cada grupo, se presenta en el cuadro 2. El bajo número de animales presentes en las categorías media y baja hace que la potencia de los test estadísticos utilizados, que se detallan a continuación, sea menor de lo inicialmente previsto.

Cuadro 2. Número de animales genotipados en cada nivel de producción (arriba) y valor genético medio (abajo, media $\pm$ desviación estándar) de cada uno de los grupos

	LCN-CAPV	LCN-NA	LCR
Alta	116 55,9 $\pm$ 9,7	116 52,7 $\pm$ 11,0	63 51,5 $\pm$ 13,5
Baja	33 -28,6 $\pm$ 3,5	35 -25,7 $\pm$ 5,0	63 -30,4 $\pm$ 5,1
Media	34 4,1 $\pm$ 17,4	24 9,4 $\pm$ 21,9	66 9,6 $\pm$ 19,8

Métodos

Se han realizado tres tipos de análisis estadísticos para estudiar la posible asociación entre el gen de la PrP y la producción de leche:

I) Test chi-cuadrado de distribución de genotipos o haplotipos entre los grupos de alta, media y baja producción. Este análisis se realizó con el procedimiento FREQ del paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., 1999) incluyendo la opción de cálculo del test exacto por Montecarlo, ya que el test asintótico tiende a dar p-valores más bajos.

II) Análisis de máxima verosimilitud entre las estimas del valor aditivo ($\hat{a}$) obtenidas en las valoraciones BLUP de la raza para producción de leche y los genotipos tanto en forma de genotipos (efecto fijo)

como en forma de haplotipos (considerando la presencia o no de determinado alelo como una covariable en el modelo). Además se incluyó el efecto año para tener en cuenta el progreso genético para producción de leche. Por tanto el modelo utilizado fue:

$$\hat{a} = \text{genotipos (haplotipos)} + \text{año} + \text{efecto poligénico}$$

donde el efecto poligénico es equivalente al residuo. Cada valor de $\hat{a}$ se ponderó por la inversa de la varianza del error de predicción. En dicho modelo se asume que tras las valoraciones genéticas, $\hat{a}$ retuvo la información correspondiente al hipotético efecto del genotipo del PrP. El número de animales incluidos en el análisis fue de 1549, 775 y 1572 en LCN-CAPV, LCN-NA y LCR, respectivamente.

Posteriormente se hizo un test de cociente de verosimilitudes a partir de los valores

obtenidos de este modelo y de un modelo (correspondiente a la hipótesis nula) donde no se incluyó el efecto del genotipo. Este análisis se realizó mediante el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., 1999). Además se calculó el Factor de Bayes (probabilidad del modelo nulo frente al modelo complejo) a través del “Bayesian Information Criterion” o BIC (SORENSEN y GIANOLA, 2002), asumiendo las mismas posibilidades a priori para cada modelo. Este criterio en principio es más conservador que el test de cociente de verosimilitudes, ya que tiene en cuenta la complejidad del modelo y el número de datos utilizado. Además, a diferencia del test de cociente de verosimilitudes, el Factor de Bayes puede apoyar la hipótesis nula.

III) Análisis de máxima verosimilitud donde se modelizó directamente la producción de leche (lactación tipo estandarizada a 120 días) de las hembras y donde se incluyó además de los efectos correspondientes

al modelo de evaluación genética habitual en la raza el efecto del genotipo. En este modelo sólo se utilizó la información genotípica de las hembras y debido al escaso número de datos de los que se disponía se hizo necesario modificar ligeramente el modelo de evaluación genética dividiendo el efecto rebaño-año-mes en dos efectos diferentes: rebaño-año y mes. El modelo resultante quedó como sigue:

$$\begin{aligned} \text{leche} = & \text{rebaño-año} + \text{mes} + \text{edad-} \\ & \text{número de parto} \\ & + \text{número de corderos nacidos vivos} + \\ & \text{intervalo parto-primer control} \\ & + \text{genotipo (haplotipo)} + \text{valor aditivo} + \\ & \text{efecto permanente} \end{aligned}$$

donde rebaño-año se consideró como efecto aleatorio, debido precisamente al escaso número de datos en cada clase. El valor aditivo se modelizó con la matriz de parentesco. Los datos incluidos en el modelo se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3. Datos utilizados en el análisis de máxima verosmilitud para producción en cada uno de los ecotipos de la raza Latxa

	LCN-CAPV	LCN-NA	LCR
Hembras con dato	992	425	130
Número de datos	3399	1278	3913
Número de grupos de comparación	565	143	299

Las estimas máximo-verosímiles se obtuvieron mediante una modificación del programa REMLF90 (MISZTAL *et al.*, 2002), utilizando un algoritmo EM como el descrito por SORENSEN y GIANOLA (2002, p. 468). Posteriormente, del mismo modo que en el análisis anterior, este modelo se testó mediante cociente de verosimilitudes y también se calculó el Factor de Bayes.

Resultados y discusión

Los resultados de los análisis realizados se muestran en el cuadro 4, reflejando los *p-valores* de la hipótesis nula (no existe efecto del genotipo del PrP) frente a la alternativa (sí existe efecto). Los valores del Factor de Bayes (probabilidad del modelo nulo

frente al modelo testado) se muestran en el cuadro 5.

Se puede observar que los p-valores del análisis II indicarían asociación producción de leche-genotipo del PrP para todas las razas, mientras que los p-valores del resto de análisis no soportan esta hipótesis para ninguna de las razas. En cambio el Factor

de Bayes, en todos los casos, soporta la hipótesis nula.

Analizando los diferentes análisis realizados, como se ha comentado anteriormente, la potencia del análisis I se vio muy reducida debido a la reducción producida en el número de animales genotipado.

Cuadro 4. P-valor obtenido en las pruebas de hipótesis de efecto del genotipo/haplotipo del PrP

Análisis		LCN-CAPV	LCN-NA	LCR
I	Genotipo	0,87	0,46	0,22
	Haplotipo	0,82	0,35	0,35
II	Genotipo	10 ⁻⁴	0,01	10 ⁻³
	Haplotipo	10 ⁻⁵	0,05	0,01
III	Genotipo	0,36	0,72	0,50
	Haplotipo	0,60	0,70	0,98

Cuadro 5. Factor de Bayes del modelo nulo frente al modelo incluyendo efecto del genotipo/haplotipo

Análisis		LCN-CAPV	LCN-NA	LCR
II	Genotipo	10 ¹¹	107	10 ¹³
	Haplotipo	155	8128	2000
III	Genotipo	10 ²⁰	10 ¹⁰	10 ⁸
	Haplotipo	10 ¹⁰	10 ⁷	10 ²¹

En cuanto al análisis II, tampoco resulta completamente satisfactorio, dado que no contempla la existencia de correlación entre las estimas de $\hat{a}$ para pares de animales como medias hermanas o animales en el mismo grupo de comparación. Para un análisis correcto sería necesario tener en cuenta la estructura de varianzas y covarianzas

de $\hat{a}$. Sin embargo, sólo se dispuso de la información correspondiente a los términos en la diagonal (la varianza del error de predicción de cada individuo). Por tanto el análisis asume que no hay correlación entre estimas de $\hat{a}$ para cada individuo, aunque sí una mayor o menor incertidumbre. Como alternativa, BRANDSMA *et al.* (2004) modeli-

zaron el efecto poligénico según la matriz de parentesco. Sin embargo dicha matriz ya ha sido utilizada en el cálculo de $\hat{a}$ pudiendo entenderse que se está considerando dos veces el mismo efecto.

En nuestra opinión el análisis más fiable es el análisis III, si bien también cuenta con un reducido número de datos, especialmente a la hora de estimar los efectos de rebaño-año.

Es importante señalar que en un primer análisis se encontró indicación de asociación mediante el análisis I en el ecotipo de Latxa Cara Rubia. Analizados los datos con más detenimiento, se observó que de entre los animales genotipados del grupo de alto valor genético, se encontraban 19 hijas de un macho mejorante. Esto supuso que los alelos de dicho macho se encontraran con mayor frecuencia en la población de alto valor genético. Una vez descartados estos datos, la evidencia de asociación desapareció. Esto ilustra los problemas a los que se pueden enfrentar los esquemas de selección: la existencia de familias de alto valor genético para caracteres productivos con alelos que no sean de interés para la lucha contra el scrapie. Una mala planificación (por ejemplo una utilización exclusiva de machos ARR/ARR) haría que dichas familias fueran descartadas como progenitores de la siguiente generación, originando a corto plazo un fuerte descenso en el progreso genético.

Teniendo en cuenta la problemática planteada, se puede decir que no se encuentra asociación entre el genotipo para PrP y la producción de leche, al igual que en otros trabajos, tanto para producción de leche (BARILLET *et al.*, 2002; PARADA *et al.*, 2003) como para producción de carne (RODEN *et al.*, 2001; PROKOPOVA *et al.*, 2002; BRANDSMA *et al.*, 2004).

Conclusión

No se observa una asociación entre las diferentes formas alélicas del gen del PrP y la producción de leche. Se puede considerar que, en el funcionamiento del esquema de mejora de la raza Latxa, la selección para el alelo ARR no afectará por asociación a la producción de leche. Sin embargo, existen otro tipo de causas que pueden afectar de forma importante al progreso genético en leche. Estas causas son principalmente dos. Por un lado, el escaso número de animales con los genotipos deseables obligaría a una bajada drástica en la presión de selección para leche, si se tiene como objetivo principal el aumento rápido de la frecuencia de esos genotipos. Por otro lado, está el hecho de la existencia de una relación estructural derivada del propio proceso de selección para leche, que, especialmente en determinados ecotipos, ha sido ejercida sobre un escaso número de familias produciéndose una relación casual y no causal.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto EET2001-4891-C03-01 del Ministerio de Ciencia y Tecnología y la ayuda concedida por el INIA para la contratación de A. Legarra. Agradecemos a Leo Alfonso su ayuda y comentarios y a Miguel Pérez Enciso la ayuda en la programación del método de máxima verosimilitud. Asimismo agradecemos a las asociaciones de criadores de la raza Latxa (ELE, AGORALA, ACOL y ASLANA) su labor en la recogida de muestras.

Bibliografía

- ALFONSO L., 2002. A comparison of different genotyping designs in population association analyses by changes in allele frequency. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. CD-ROM Communication N° 22-31.
- BARILLET F., ANDREOLIFTI O., PALHIÈRE I., AGUERRE X., ARRANZ J.M., MINERY S., SOULAS C., BELLOC, J.P., BRIOIS M., FREGEAT G., TEINTURIER P., AMIGUES ANTRUC J.M., BOSCHER M.Y., SCHELCHER F., 2002. Breeding for scrapie resistance using Prp genotyping in the french dairy sheep breeds. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. CD-ROM Communication N° 13-20.
- BRANDSMA J.H., JANSSE L.L.H., VISSCHER, A.H., 2004. Association between PrP genotypes and litter size and 135 days weight in Texel sheep. *Liv.Prod.Sci.*, 85, 59-64.
- DÍAZ C., SERRANO M., TORRES J.M., 2001. Base genética de la resistencia-susceptibilidad a las encefalopatías espongiformes transmisibles en las especies bovina y ovina. ITEA, 97A, 131-144.
- MISZTAL I., TSURUTA S., STRABEL T., AUVRAY B., DRUET T., LEE D.H., 2002. BLUPF90 and related programs (BGF90). 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. CD-ROM Communication N° 28-07.
- PARADA A., MARCOTEGUI N., ALFONSO A., ARANA A., 2003. Análisis de asociación entre el genPrP y la producción de leche en un rebaño de ovejas Assaf. ITEA, Vol. Extra N° 24, 438-440.
- PROKOPOVA L., LEWIS R.M., DINGWALL W.S., SIMM G., 2002. Scrapie genotype: a correlation with lean growth rate? 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. CD-ROM Communication N° 13-44.
- RODEN J.A., HARESIGN W., ANDERSON J.M.L., 2001. Analysis of PrP genotype in relation to performance traits in Suffolk sheep. *Proc.Brit.Soc.An.Sc.* 45 (2001).
- SAS Institute Inc., 1999. SAS Institute Inc., SAS OnlineDoc®, Version 8, Cary, North Carolina.
- SORENSEN D., GIANOLA D., 2002. Likelihood, Bayesian, and MCMC methods in quantitative genetics. Springer-Verlag, New York.

EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO EN LOS PRIMEROS TRES MESES DE EDAD EN MERINO ESPAÑOL MEDIANTE EL USO DE REGRESIONES ALEATORIAS

A. Menéndez Buxadera*, **M. Valera****, **J.M. Serradilla*****,
A. Molina****

* Centro de Control Pecuario, Ministerio de la Agricultura, Conill y Boyeros, Ciudad de La Habana (Cuba)

** Departamento de Ciencias Agroforestales, EUITA, Universidad de Sevilla (España)

*** Departamento de Producción Animal, E.T.S.I.A.M. Universidad de Córdoba (España)

**** Departamento de Genética. Campus Universitario de Rabanales, Universidad de Córdoba (España)

RESUMEN

Los resultados de 88727 estimaciones de peso vivo pertenecientes a 30214 animales Merino autóctono español entre 2 y 92 días de edad, nacidos entre 1992 y 2002 en un total de 30 ganaderías fueron analizados con el objetivo de presentar los primeros resultados de la aplicación de un sistema de regresiones aleatorias (RRM) a este tipo de datos. Como efectos fijos se incluyeron los grupos contemporáneos, del mismo rebaño, año y estación (GC, con 452 niveles); edad de la madre (11 niveles) y la combinación sexo de la cría con tipo de parto (4 niveles) así como los polinomios de los efectos fijos de la edad, expresada en forma estandarizada entre -1 a +1, de orden 5 para GC y de orden 3 para el resto. Los efectos genéticos directos (a); maternos (m); de ambiente permanente debido a repeticiones del animal que produce el registro (p_i) y de ambiente materno permanente (p_w) fueron considerados como covariables aleatorias con diferente orden de ajuste. La varianza residual se asumió heterogénea con cuatro niveles, de acuerdo a las clases de edad; la covarianza entre ambos efectos genéticos (C_{am}) fue incluida. Los resultados del mejor RRM arrojaron un patrón de tendencia ascendente en toda la trayectoria de edad representada para todas las componentes de varianza estimadas mientras que ocurrió lo contrario para C_{am} . Según nuestros resultados, la heredabilidad para ambos efectos genéticos (h_a^2 y h_m^2) aumenta en función de la edad, con estimas de 0.106 a 0.154 para h_a^2 y de 0.042 a 0.110 para h_m^2 . El antagonismo fue marcado entre a y m con correlaciones (R_{am}) entre -0.517 a -0.706 durante los primeros 28 días, declinando posteriormente hasta alcanzar valores de -0.340 a -0.356 entre los 70 y 84 días de edad. En este trabajo se analizan algunas de las ventajas que puede brindar el uso de RRM para el programa de mejora de esta raza.

Introducción

En el Núcleo de Control Cárnico del programa de mejora del Merino español se llevan a cabo controles de crecimiento periódicos de los corderos (4 pesadas por animal). Los registros del peso vivo (PV_i) de cada animal son ajustados a edades tipo fijas (30 y 75 días, en representación del crecimiento predestete y del peso al final del cebo), utilizándose estas nuevas variables en la valoración genética. Independientemente de otras consideraciones vale la pena cuestionarse sobre las ventajas de utilizar *'una variable resumen (dimensión finita) tal como el peso vivo ajustado a una edad fija'* en comparación al empleo de *'las variables originales, pesos vivos no transformados, repetidas periódicamente (dimensión infinita) con las que se estimaron las variables resumen'*. Múltiples trabajos han sido publicados en los cuales se demuestran las ventajas de este último enfoque, lo que internacionalmente se denomina *Test Day Model* (TDM), cuya primer versión operativa se debe a SCHAEFFER y DEKKER (1994), quienes presentaron las bases de un procedimiento estadístico para tratar estos TDM mediante lo que se conoce como *Random Regression Model* (RRM). MEYER (2004) y SCHAEFFER (2004) han presentado recientemente una panorámica general sobre los RRM, indicando la amplia gama de aplicaciones de este procedimiento en el campo de la mejora animal.

Los trabajos de LEWIS y BROTHERSTONE (2002) y FISHER y col. (2004) han demostrado las posibilidades del uso de RRM en ovinos de carne. Estos autores emplearon datos de un periodo de tiempo relativamente largo de la curva de crecimiento. En ninguno de los dos casos se estudiaron las posibles relaciones entre efectos genéticos directos y maternos. El objetivo de este tra-

bajo es presentar una versión preliminar de la aplicación de RRM a datos de peso vivo del Merino español en una etapa temprana del crecimiento (primeros tres meses) y al propio tiempo mostrar los primeros resultados de la evolución de la covarianza entre ambos efectos genéticos.

Material y métodos

Para este estudio se partió de una base de datos con 124586 controles de peso vivo correspondientes a 32701 corderos de raza Merina autóctona. Estos animales nacieron entre 1992 y 2002 en 43 ganaderías. De este conjunto de datos se eliminaron aquellas ganaderías con menos de 500 registros, así como aquellos animales con menos de tres controles de peso, quedando finalmente un total de 88727 controles de peso vivo (entre 2 y 92 días de edad) pertenecientes a 30214 animales, hijos de 546 machos y 15586 madres explotadas en 30 explotaciones. El pedigrí de cada animal se obtuvo con la información suministrada por el libro genealógico de la raza, contando finalmente con un total de 45941 animales. No se consideró el peso al nacimiento, ya que al estar disponible en la totalidad de los individuos puede afectar los resultados del análisis al brindarle mayor ponderación a esta edad inicial.

El modelo estadístico de RRM empleado se puede representar como:

$$y = Xb + Z_1a + Z_2m + P_1i + P_2w + R$$

donde y es un vector de n observaciones del peso vivo en la trayectoria de edad en la que se registraron los datos; b es un vector de efectos fijos que incluye una ecuación de regresión fija de orden k_f intra grupo contemporáneo (ganadería-año-estación con 452 niveles, $k_f=5$); la edad al parto de la

hembra (11 niveles, $k_f=3$) y la combinación sexo del cordero y tipo de parto de la hembra -simple ó doble-, con 4 niveles ($k_p=3$). Los vectores a , m , i y w son los coeficientes de regresión aleatorios (de orden k_a ; k_m ; k_i y k_w respectivamente) para los efectos genéticos aditivos directos, maternos así como para los efectos de ambiente permanentes del animal y de ambiente permanente materno respectivamente. Las matrices de incidencia X ; Z_1 ; Z_2 ; P_1 y P_2 contienen las covariables de los polinomios de orden k para cada efecto definidos previamente. Finalmente R representa los efectos aleatorios de la varianza residual heterogénea con cuatro clases correspondientes a las edades 2 a 21; 22 a 49; 50 a 63 y 64 a 92.

El análisis se llevó a cabo con el software ASREML (GILMOUR *et al.*, 2000) empleando el algoritmo *Average Information* REML. Este software brinda las matrices K de coeficientes de regresión aleatoria para cada efecto incluido en el modelo antes des-

crito, así como los coeficientes de los polinomios para la edad estandarizada (t_j) entre -1 a +1. Los parámetros genéticos para cada punto de la trayectoria de edad (entre 2 y 92 días) se estimaron modificando los valores de K y t_j siguiendo las recomendaciones de JAMROZIK and SCHAEFFER (1997).

Se compararon múltiples versiones del RRM variando la magnitud del orden de ajuste de los coeficientes de los polinomios. No obstante, la discusión de los mismos esta fuera del contexto de esta primer presentación, en la que sólo se muestran los resultados del mejor modelo.

Resultados y discusión

El número de datos empleados así como las medias generales para diferentes intervalos de 7 días de edad se muestran en la figura 1. Cada punto de esta curva represen-

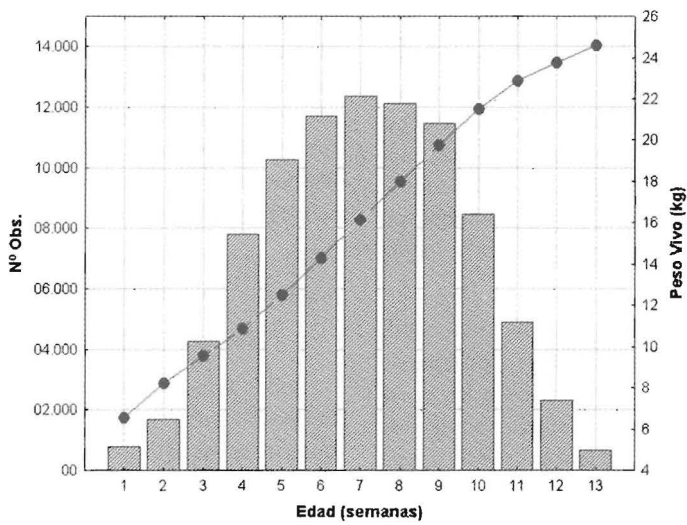


Figura 1. Número de observaciones (barras) y media (puntos) de peso vivo (kg) por cada 7 días de edad en Merino Español.

ta la media simple de un grupo de animales de la misma edad. En general, el número de observaciones para cada clase se considera satisfactoria, excepto en la primer semana de edad donde cada día esta representado con 50 a 100 registros y el ultimo día de la semana 13 con menos de 100 observaciones. Esta trayectoria del crecimiento en los tres primeros meses de edad aparentemente muestra una forma lineal, sin embargo análisis previos realizados demostraron que una ecuación cuadrática se ajusta mejor (MENÉNDEZ BUXADERA y col., 2002a).

Los componentes de varianza-covarianza que se presentan en las figuras 2 a 5, corresponden a los resultados de un modelo polinomial de orden $k=2$ (ecuación lineal) para todos los efectos aleatorios, excepto para P_w , en el que el mejor ajuste se obtuvo aplicando $k_w = 0$, es decir el valor de la intersección de la ecuación.

Las varianzas para los efectos genéticos directos (a); maternos (m); la varianza fenotípica total (figura 2), así como los efectos de ambiente permanente debidos a las repeticiones del peso vivo de cada animal (no representados), manifiestan una tendencia positiva y regular en toda la trayectoria de edad representada en este estudio. Por el contrario, la covarianza entre efectos genéticos directos y maternos (C_{am}) presentó valores negativos y decrecientes en este mismo periodo. Este patrón antagónico de C_{am} es coincidente con resultados previos con esta misma raza (MENÉNDEZ BUXADERA y col., 2002b) pero estimado mediante un modelo animal multicaracter y datos ajustados previamente a edad fija.

Según nuestros resultados, la heredabilidad para efectos directos y maternos (h^2_a y h^2_m respectivamente) aumenta en función de la edad, mientras que la correlación entre

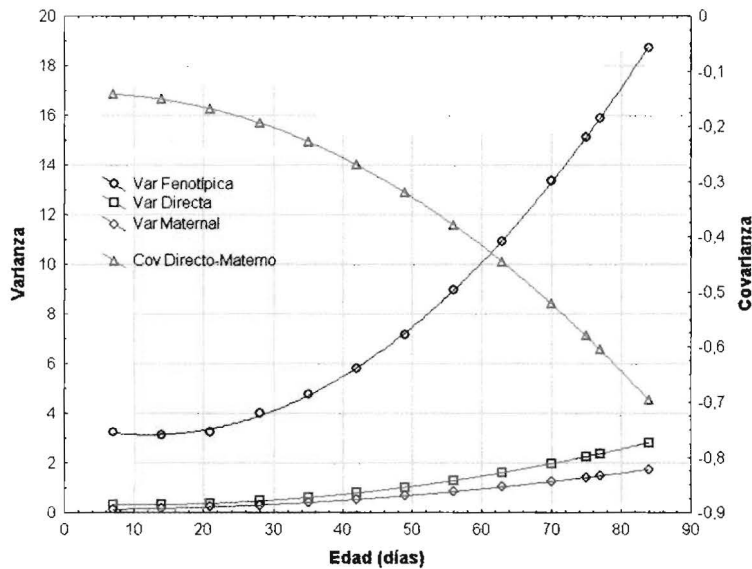


Figura 2. Evolución de los componentes de la varianza y la covarianza para el peso vivo en corderos Merinos españoles.

ambos efectos genéticos (R_{am}) es negativa y decrece marcadamente hasta los 50 días, edad a la que parece estabilizarse (figura 3). Los resultados de FISCHER y col. (2004) y LEWIS y BROTHERSTONE (2002) muestran patrones semejantes aunque con valores mayores de h^2_a y h^2_m . En ambos casos estos

autores aplicaron RRM, pero no incluyeron el C_{am} en el modelo. En términos generales puede indicarse que los resultados de este estudio están dentro del contexto de otras publicaciones sobre ovino de carne de España (JURADO y cols., 1987; SIERRA y cols., 1998).

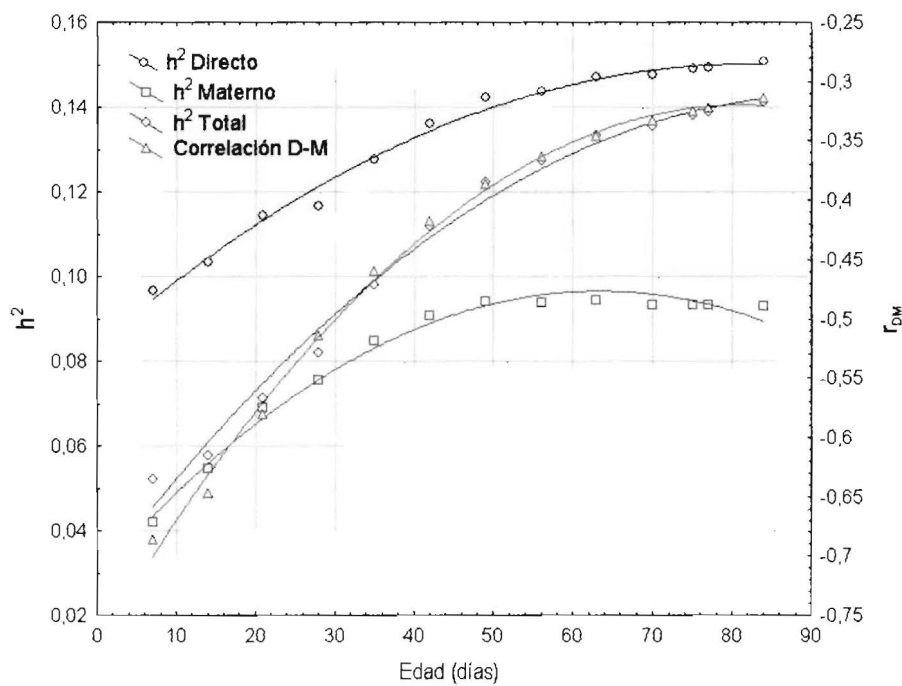


Figura 3. Evolución de la heredabilidad directa, materna, total y la correlación genética directa-materna para el peso vivo a lo largo del periodo analizado en el Merino autóctono español.

Las estimaciones de correlaciones genéticas entre los efectos genéticos directos (R_a) y entre los efectos maternos (R_m) para el peso vivo estimado a diferentes edades se muestran en las figuras 4 y 5. En ambos casos se manifiesta el clásico patrón donde la magnitud de R_a y R_m decrece en la medida que

aumenta la diferencia de edad entre dos estimaciones de peso vivo. Es interesante destacar que los pesos vivos a 35 y a 42 días de edad presentan valores de correlación genética superiores a 0.9 con el peso vivo a 75 días de edad que constituye el principal objetivo de selección en el Merino español.

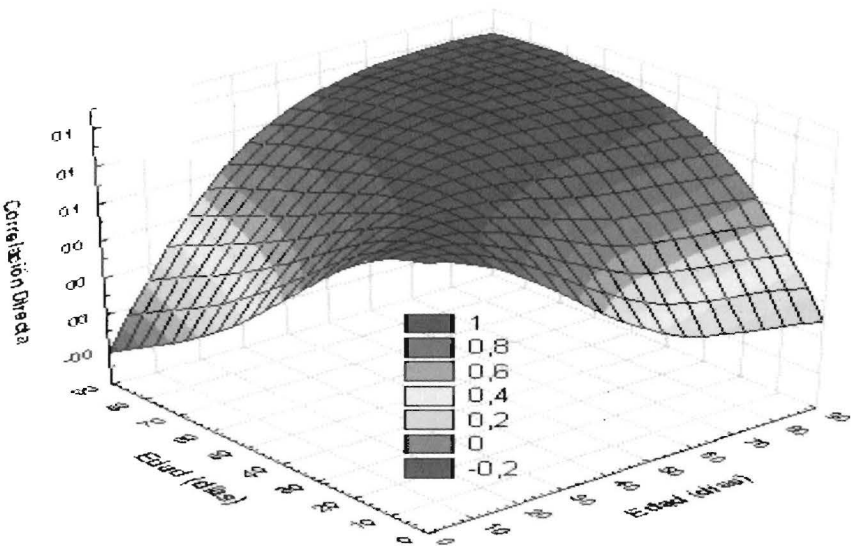


Figura 4. Evolución de la correlación entre los efectos genéticos directos para el peso vivo a lo largo del periodo analizado en el Merino autóctono español.

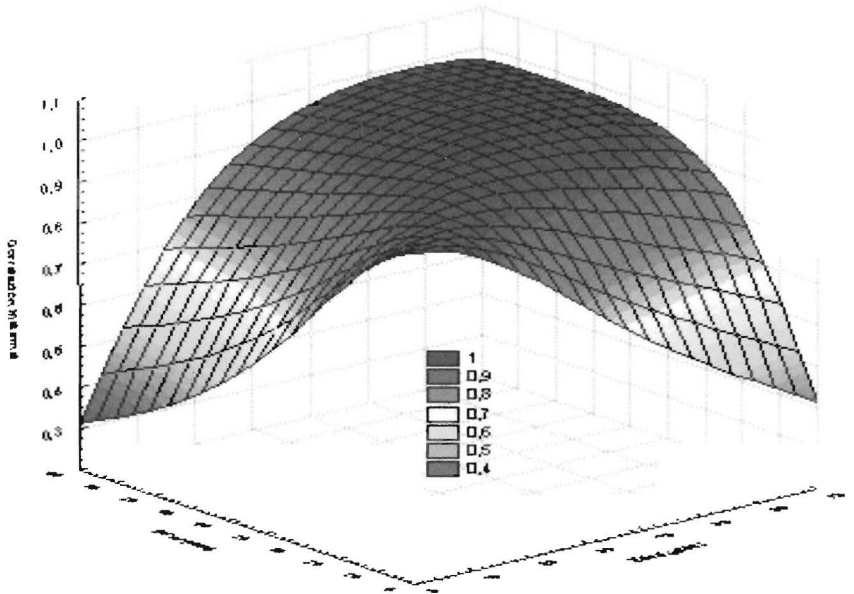


Figura 5. Evolución de la correlación entre los efectos genéticos maternos para el peso vivo a lo largo del periodo analizado en el Merino autóctono español.

Conclusiones

Los resultados de este estudio demuestran que es posible aplicar RRM para analizar todos los datos disponibles sobre el peso vivo del Merino en esta etapa de crecimiento. Para no hacer excesivamente extensa esta comunicación no discutimos todas las ventajas que puede brindar este procedimiento de RRM, centrándonos en las que consideramos más importantes:

1. Con una sola ejecución se pueden estimar los parámetros genéticos y el valor genético de todos los animales para el peso vivo en cualquier punto de la trayectoria de edad registrada.

2. Mediante la modificación de los coeficientes de regresión aleatorios de cada animal y de los polinomios de la edad estandarizada, es posible estimar los principales parámetros genéticos y valor genético de todos los animales para la ganancia de peso entre cualquiera de las edades.

Bibliografía

- FISCHER T.M., VAN DER WERF J.H.J., BANKS R.G., A.J. BALL., 2004. Liv. Prod. Sci. In press.:
- GILMOUR A., CULLIS B.R., WELLHAM S.J., THOMPSON R., 2000. ASREML manual.
- JAMROZIK, SCHEFFER L.R., 1997. J. Dairy Sci. 80, 762-770.
- JURADO J., ALENDA R., ALONSO A., SÁNCHEZ DE LA BLANCA A., 1987. 38 Annual Meet. of EAAP. Lisboa, Portugal, 7 pag.
- LEWIS R.M., BROTHERSTONE S., 2002., Anim. Sci. 74, 63-70.
- MENÉNDEZ BUXADERA A., VALERA M., SERRADILLA J.M., MOLINA A., 2003^a. X Jornadas Sobre Producción Animal. Zaragoza.
- MENÉNDEZ BUXADERA A., VALERA M., SERRADILLA J.M., MOLINA A., 2003^b. X Jornadas Sobre Producción Animal. Zaragoza.
- MEYER K., 2004. Liv. Prod. Sci. 86, 68-83.
- SCHAEFFER L.R., DEKKERS J.C.M., 2004. 5th WCALP Guelph XVIII:443.
- SCHAEFFER L.R., 2004. Liv. Prod. Sci. 86, 35-45.
- SIERRA A., DELGADO J.V., MOLINA A., BARBA C., BARAJAS F., RODERO A., 1998. World Merino Conference, 29-31 March, 1998, Christchurch, New Zealand, 3 pag.

EVALUACIÓN DEL SISTEMA DE MARCAJE PIT (*PASSIVE INTEGRATED TRANSPONDER*) EN ALEVINES DE DORADA (*SPARUS AURATUS* L.)

**A. Navarro, V. Oliva, M.J. Zamorano, R. Ginés,
J.M. Afonso**

Dpto. Patología Animal, Producción Animal y C.T.A.. Facultad
de Veterinaria. ULPGC. Trasmontaña s/n. 35416, Arucas
ana.navarro104@doctorandos.ulpgc.es

Introducción

En los programas de mejora genética de peces el conocimiento de la genealogía mediante la cría separada de las familias requiere de grandes instalaciones y un control preciso de la reproducción que permita establecer tanto familias de medios hermanos como de hermanos carnales, para posteriormente marcar los peces, por ejemplo físicamente, cuando alcancen la talla adecuada y permitir entonces la cría conjunta de todas las familias, disminuyendo así las fuentes de parecido debido al ambiente común que comparten los peces de una misma familia durante su crecimiento (HERBINGER *et al.*, 1999).

La aplicación o utilización de marcadores físicos y/o moleculares depende de las particularidades de los sistemas de producción y las características biológicas de cada especie. En el caso particular de la dorada, mantener las puestas familiares en tanques separados es bastante costoso. Así, las empresas de cría mantienen sus lotes de reproductores en puesta masal para asegurar la calidad y sus niveles de producción. Es más, no es fácil la coordinación entre las empresas de cría y engorde al objeto de tener un perfecto control de las produccio-

nes, porque, por ejemplo, en las empresas de engorde se mezclan habitualmente descendientes de varios lotes de reproductores, con el fin de optimizar la gestión de las instalaciones.

Para el marcaje individual de los peces, habitualmente se utilizan sistemas físicos externos e internos. Aunque los externos son más fáciles de aplicar a un bajo costo, tienen la desventaja de que pueden afectar al crecimiento y la supervivencia (BERG y BERG, 1990; MOFFET *et al.*, 1997). Por contra, los sistemas internos, como el *Passive Integrated Transponder* (PIT), tienen un efecto negativo menor sobre el crecimiento y la supervivencia de los peces (BARAS *et al.*, 2000; GRIES y LETCHER, 2002). En este sentido, el sistema de marcaje PIT ha sido utilizado con éxito en distintas especies, bien con el objeto de llevar un control de las poblaciones en los ecosistemas naturales como en poblaciones de cultivo (GRIES y LETCHER, 2002; RYAN *et al.*, 2001; ROUSSEL *et al.*, 2000; BARAS *et al.*, 2000).

Las diferencias en susceptibilidad a los anestésicos y la manipulación, la capacidad de recuperación, la tasa de crecimiento o incluso la morfología entre las especies, hace necesario que los sistemas de marcaje PIT sean optimizados por especie (MAHAPATRA *et*

al., 2001; BRUYNDONCX *et al.*, 2002). En este sentido, la dorada carece de estudios sobre sistemas de marcaje PIT, y más aún a tallas pequeñas. Por ello, con el presente trabajo se ha estudiado la mejor posición corporal, la talla mínima para los implantes con PIT, a la vez valorar su tasa de retención y efecto en el crecimiento y la mortalidad de alevines de dorada.

Material y métodos

Experimento 1

Se marcaron 69 peces de $3,45 \pm 0,032$ g de peso inicial con el sistema interno *Passive Integrated Transponder* (PIT) de la empresa TROVAN. En la cavidad abdominal se marcaron 36 peces (figura 1a), mientras que al resto (33 peces) se les implantó en el lomo dorsal (figura 1b). Adicionalmente se utilizaron como control 34 peces de la misma talla.

Todos los peces fueron distribuidos al azar, por marca y en igual proporción, en dos tanques de 500 litros. Los peces se mantuvieron durante un periodo total de 28 días, según las tablas de alimentación recomendadas por la empresa suministradora de piensos Proaqua S.A. (Dueñas, Palencia). La densidad media inicial fue de $0,356 \pm 0,007$ g/m³, y el oxígeno disuelto, la temperatura y el flujo del agua fueron de $6,42 \pm 0,08$ mg/L, $19,84 \pm 0,075$ °C y 4 L/min., respectivamente.

Para marcar los peces, éstos fueron anestesiados con clorobutanol (200 mg/L). En el caso del marcaje abdominal, y para facilitar la introducción del PIT paralelo al eje longitudinal del pez, se les hizo previamente una incisión ventral (entre las aletas pélvicas y el opérculo).

Se realizaron 4 muestreos, a los días 0, 15, 26 y 28 para el peso y la longitud. La mortalidad y la tasa de retención se valoraron, de modo acumulado, al final de los 28 días.

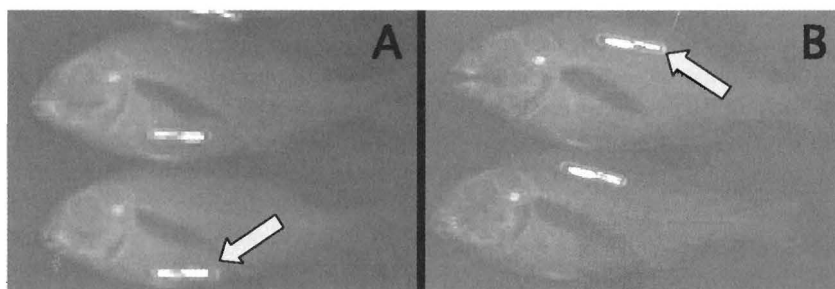


Figura 1. Radiografía de alevines de dorada, marcados con PIT. A, marcaje en cavidad abdominal, bajo la vejiga natatoria. B, marcaje en el lomo dorsal.

Experimento 2

Se marcaron 727 peces de $4,73 \pm 0,04$ g con PIT, sólo en la posición abdominal, uti-

lizándose 245 peces no marcados de $4,46 \pm 0,07$ g como control, y donde la diferencia de peso al inicio fue estadísticamente significativa ($P < 0,05$). Los peces fueron distribuidos al azar y en igual proporción en dos

tanques de 1000 L y mantenidos con las condiciones de alimentación descritas anteriormente durante un periodo de 66 días. La densidad media inicial fue de $2,26 \pm 0,083$ kg/m³, y el oxígeno disuelto, la temperatura y el flujo del agua fueron de $6,21 \pm 0,08$ mg/L, $22,46 \pm 0,061$ °C, 21 L/min., respectivamente. El peso y la longitud de los peces se midieron los días 0, 36 y 66.

Ambos experimentos se realizaron en el Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM). Los datos se analizaron mediante ANOVA de dos vías con el programa SPSS (v11.0) y con el siguiente modelo lineal general:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

donde μ es la media global, α_i el efecto fijo del sistema de marcaje, β_j el efecto fijo del tanque, $(\alpha\beta)_{ij}$ la interacción entre ambos factores y ε_{ijk} el error residual.

Resultados y discusión

Experimento 1

Durante la primera semana después de realizado el marcaje, se produjo un decaimiento del crecimiento entre los peces con PIT, que se compensó con el transcurso de los días (datos no mostrados). El peso medio final ($\pm$ error típico) de los peces marcados en la posición abdominal fue de $6,025 \pm 0,198$ g, en la posición dorsal $6,458 \pm 0,26$ g y en los peces no marcados el peso fue de $6,11 \pm 0,16$ g ($P > 0,05$). Al comparar entre el marcaje abdominal y dorsal, la tasa de pérdida de los PITs fue del 14 % en el primer caso, mientras que en el segundo fue de un 40 % ($P < 0,05$). Por otra parte, la tasa de mortalidad de los peces fue de 2,8 % en

el caso del marcaje abdominal y de 0 % en el marcaje dorsal.

Experimento 2

Al final de este experimento se mantuvieron las diferencias estadísticamente significativas en peso entre peces marcados ($39,39 \pm 0,31$ g) y no marcados ($37,73 \pm 0,50$ g) que ya existían en el momento inicial, poniendo de relieve la no existencia de efecto del marcaje sobre el crecimiento puesto que la tasa específica de crecimiento diaria fue la misma en peces marcados y control, 1,4%. La tasa de pérdida de los PITs en los peces marcados fue del 1,4 %. En cuanto a la tasa de mortalidad de los peces durante el experimento, ésta fue del 12,6 % en los peces marcados, mientras que en los no marcados fue del 3,6 % ($P < 0,001$).

Estos resultados ponen de relieve la conveniencia de utilizar el sistema de marcaje PIT en alevines de dorada desde tallas de 3 gramos sin efecto negativo sobre el crecimiento a corto plazo. En este sentido, estos resultados concuerdan con los descritos para alevines de 3 g en rohu (*Labeo rohita*) (MAHAPATRA *et al.*, 2001) y en salmón del Pacífico (*Oncorhynchus kisutch*) (R. Neira, comunicación personal). En relación al crecimiento compensatorio observado en las doradas marcadas a los 3 gramos, también ha sido observado en otras especies como tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) (BARAS *et al.*, 1999) y perca (*Perca fluviatilis*) (BARAS *et al.*, 2000), después de la primera semana de haber realizado los implantes.

Las tasas de mortalidad encontradas en este estudio no estuvieron asociadas a patologías infecciosas, ya que los peces muertos

fueron sometidos al análisis de organismos infecciosos sin encontrar relación alguna. Por el contrario, la mortalidad sí que estuvo asociada con la manipulación inadecuada durante el proceso de marcaje, como son la práctica o habilidad de quien implanta o el número de peces a marcar. Es más, recientemente hemos realizado un tercer experimento (datos no mostrados), en el que se marcaron 204 peces de entre 4-8 gramos con una supervivencia del 100% a los 25 días post-implante. En este sentido, estudios realizados en otras especies ponen de manifiesto que la implantación del PIT no afectó de manera importante en la mortalidad de los peces, aún a tallas pequeñas. Así, MAHAPATRA *et al.* (2001), en peces de entre 2-6 g de rohu (*Labeo rohita*), obtuvieron una supervivencia de entre 80-88 %, siendo maximizada hasta el 95% mejorando los condicionantes de manipulación en el momento del marcaje. Estos autores también mejoraron la supervivencia con la talla de los peces, un 98 % para peces de entre 8-15 g. BARAS *et al.* (2000), obtuvieron un 75,8% de supervivencia en perca marcando a los 2,78 g, mientras que BRUYNDONCX *et al.* (2002), en alevines del pez de agua dulce demersal *Cothus gobio*, encontraron una supervivencia del 100% para peces marcados a 4 g.

En cuanto al porcentaje de retención del PIT encontrado en el presente trabajo, estuvo influenciado de modo estadísticamente significativo por la posición del implante, siendo la cavidad abdominal la más idónea para dorada a los 3 g de peso. Dentro de las doradas marcadas en la cavidad abdominal, tanto el peso de los peces como la experiencia mejoraron la tasa de retención. Es más, en el tercer experimento mencionado más arriba detectamos una tasa de retención del 100%. Todo ello está en concordancia con lo encontrado por otros autores, oscilando la tasa de

retención entre 80-100 % para las mismas especies citadas anteriormente (BARAS *et al.*, 1999; BARAS *et al.*, 2000; MAHAPATRA *et al.*, 2001; BRUYNDONCX *et al.*, 2002).

Conclusiones

Estos antecedentes ponen de manifiesto que la implantación del PIT a tallas de alevín en dorada es viable porque no afecta de manera significativa ni al crecimiento ni a la supervivencia de los peces, lo que da lugar a la incorporación de ésta práctica en los criaderos comerciales de dorada, a fin de tener establecidas, desde muy temprano, las relaciones de parentesco de los peces.

Agradecimientos

A los miembros del laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Veterinaria de Las Palmas de Gran Canaria, por asistirnos en los análisis de diagnóstico de patógenos. También al departamento de cultivos del Instituto Canario de Ciencias Marinas, donde fueron realizados los experimentos. Este estudio fue financiado por el Gobierno de Canarias, PI2002/212.

Bibliografía

- BARAS E., WESTERLOPPE L., MELARD C., PHILIPPART J.C., BENECH V., 1999. Evaluation of Implantation Procedures for PIT-Tagging Juvenile Nile Tilapia. *North American journal of Aquaculture*, 61, 246-251.
- BARAS E., MALBROUCK C., HOUBART M., KESTEMONT P., MELARD C., 2000. The effect of PIT tags on growth and physiology of age-0 cultured Eurasian perch

- Perca fluviatilis* of variable size. *Aquaculture* 185, 159-173.
- BERG O., BERG M., 1990. Effects of Carlin tagging on the mortality and growth of anadromous Arctic char, *Salvelinus alpinus* (L.). *Aquaculture and Fisheries Management* 21, 221-227.
- BRUYNDONCX L., KNAEPKENS G., MEEUS W., BERVUETS L., FENS M., 2002. The evaluation of passive integrated transponder (PIT) tags and visible implant elastomer (VIE) marks as new marking techniques for the bullhead. *Journal of Fish Biology* 60, 260-262.
- GRIES G., LETCHER B.H., 2002. Tag retention and survival of age-0 atlantic salmon following surgical implantation with passive integrated transponder tags. *North American Journal of Fisheries Management* 22, 219-222.
- HERBINGER C.M., O'REILLY P.T., DOYLE R.W., WRIGHT J.M., O'FLYNN F., 1999. Early growth performance of Atlantic salmon full-sib families reared in single family tanks versus in mixed family tanks. *Aquaculture* 173, 105-116.
- MAHAPATRA K.D., GJERDE B., REDDY P.V.G., SAHOO M., JANA R.K., SAHA J.N., RYE M., 2001. Tagging: on the use of passive integrated transponder (PIT) tags for the identification of fish. *Aquaculture Research* 32, 47-50.
- MOFFETT I.J.J., CROZIER W.W., KENNEDY J.A., 1997. A comparison of five external marks for Atlantic salmon. *Salmo salar* L. *Fisheries Management and Ecology* 4, 49-53.
- ROUSSEL J.M., HARO A., CUNJAK R.A., 2000. Field test of a new method for tracking small fishes in shallow rivers using passive integrated transponder (PIT) technology. *Can J Fish Aquat Sci; J Can Sci Halieut Aquat* 57, 1326-1329.
- RYAN B.A., FERGUSON J.W., LEDGERWOOD R.D., NUNNALLEE E.P., 2001. Detection of passive integrated transponder tags from juvenile salmonids on piscivorous bird colonies in the columbia river basin. *North American Journal of Fisheries Management* 21, 417-421.

IDENTIFICACIÓN DE QTL SOBRE NÚMERO DE MAMAS EN UN CRUCE EXPERIMENTAL F2 IBÉRICO X MEISHAN

C. Rodríguez*, A. Tomás**, M. Arqué***, C. Barragán*,
O. Ramírez**, L. Varona***, E. Alves*, M. Amills**,
J.L. Noguera***

* Dpto. Mejora Genética Animal, SGIT-INIA, Madrid 28040

** Unitat de Genètica i Millora Animals, Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària, UAB. Bellaterra 08193

*** Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Lleida 25198

Introducción

En los últimos años el tamaño de camada se ha convertido en uno de los objetivos principales en los programas de selección de cerdos. Con el uso de líneas hiperprolíficas el número de tetinas que presenta una cerda puede condicionar el número de lechones destetados de la camada. En este escenario, la detección de QTL para el número de mamas puede ser de interés en futuros programas de mejora. Existen numerosos trabajos en que se han detectado QTL para este carácter en los cromosomas 1 (ROHER, 2000; CASSADY *et al.*, 2001; BEEKMANN *et al.*, 2003), 2 (HIROOKA *et al.*, 2001), 3 (WADA *et al.*, 1998; ROHER, 2000), 6 (CASSADY *et al.*, 2001), 7 (BIDANEL *et al.*, 2000; CASSADY *et al.*, 2001), 8 (CASSADY *et al.*, 2001; KING *et al.*, 2003), 10 (ROHER, 2000; HIROOKA *et al.*, 2001; DRAGOS-WENDRICH *et al.*, 2003), 11 (CASSADY *et al.*, 2001), 12 (HIROOKA *et al.*, 2001) y 16 (Bidanel *et al.*, 2000). Sin embargo solamente los QTL mapeados en los cromosomas 7, 10 y 16 son significativos a nivel genómico.

El objetivo de este trabajo es la detección de posibles QTL para el número de mamas mediante barrido genómico en un cruce experimental F2 entre las razas *Ibérica* y *Meishan*. Se trata de dos razas genéticamente muy alejadas (ALVES *et al.*, 2003), que presentan valores extremos para el carácter y una de las cuales no ha sido analizada hasta la fecha con este propósito. La raza *Meishan* tiene una media de 17,33 tetinas (DESPRÈS *et al.*, 1992) mientras que en el *Ibérico* el número medio de tetinas por animal es de 10,05 (TORO *et al.*, 1986).

Material y métodos

Material animal

El material analizado procede de un cruce experimental *Ibérico* x *Meishan*, obtenido a partir de 3 verracos *Ibéricos* de la línea Guadyrbas (CIA Dehesón del Encinar, Oropesa, Toledo), 18 cerdas *Meishan* (Domaine du Magneraud, INRA, Francia), 116 animales F1 (8 verracos y 108 cerdas) y 259

cerdas F2, pertenecientes a 99 familias de hermanos completos, nacidas en la granja que Nova Genética posee en Solsona (Lleida).

Marcadores utilizados

Para el barrido genómico se utilizaron como marcadores 5 polimorfismos de genes y 110 microsatélites, repartidos entre los 18 autosomas. Las características del panel de marcadores se muestran en el cuadro 1. El número de marcadores por cromosoma oscila entre 4 (cromosoma 18) y 9 (cromosoma

6). Los microsatélites fueron seleccionados por su posición en los mapas, su facilidad de genotipado y su informatividad en los animales parentales, calculada esta mediante el índice de Ron (RON *et al.*, 1995). Los productos de PCR fueron sometidos a una electroforesis capilar y detección fluorescente en un equipo automatizado ABI Prism 3100 *Genetic Analyzer* (Applied Biosystems) y, posteriormente, analizados mediante el programa de análisis de fragmentos *GeneScan* (Applied Biosystems). Los genotipos de los animales del pedigrí fueron almacenados en la base de datos GEMMA (IANNUCELLI *et al.*, 1996).

Cuadro 1. Características del panel de 115 marcadores utilizado en el experimento

	Media	Mínimo	Máximo	Total
Marcadores / Cromosoma	6.4	4	9	115
Alelos / Marcador	5	2	9	580
Tamaño Cromosoma (cM)	111.4	53.6	158.6	2005
Intervalo Marcadores (cM)	17.4	6.6	63.8	

Análisis estadístico

La información obtenida del genotipado de cada cromosoma se ha utilizado para la construcción del correspondiente mapa mediante el programa CRIMAP versión 2.4 (GREEN *et al.*, 1990). Los mapas de ligamiento obtenidos para todos los cromosomas son semejantes a los publicados previamente.

El barrido genómico, a lo largo de los 18 autosomas, se ha realizado mediante el programa QTL Express (SEATON *et al.*, 2000), utilizando el siguiente modelo de regresión:

$$y_{ij} = F_i + c_a a + c_d d + e_{ij}$$

donde y_{ij} es la observación ij , F_i es el efecto fijo asociado a la familia de hermanos completos, a es el efecto aditivo, d el efecto de dominancia y e_{ij} es el efecto residual. Los coeficientes c_a y c_d se calcularon del siguiente modo:

$$c_a = pr(QQ) - pr(qq) \text{ y } c_d = pr(Qq)$$

donde $pr(QQ)$ es la probabilidad de ser homocigoto de origen *Meishan*, $pr(qq)$ es la probabilidad de ser homocigoto de origen *Ibérico* y $pr(Qq)$ es la probabilidad de ser heterocigoto.

Los correspondientes umbrales de significación cromosómica al 5% y al 1% se calcularon mediante técnicas de permutación

de los datos (CHURCHILL y DOERGE, 1994), realizándose 10000 permutaciones. Para calcular los umbrales genómicos de significación se utilizó la corrección de Bonferroni descrita por KNOTT *et al.* (1995)

Resultados y discusión

Número de mamas

El barrido genómico ha mostrado evidencias de QTL que afectan al número de mamas en tres de los dieciocho autosomas. En el cuadro 2 se presentan la posición, valores aditivos y de dominancia para los QTL más significativos. La estimación de los efectos aditivos de los QTLs indican una superioridad de los alelos *Meishan* del QTL para el carácter número de mamas, de acuerdo con las diferencias encontradas en la líneas parentales.

Los tres QTL significativos presentan efectos aditivos elevados, especialmente los detectados en los cromosomas 5 y 10. El QTL del cromosoma 5 mapea en la posición 27 (cuadro 3), entre los microsatélites SJ024 y SWR453. Este QTL no había sido detectado previamente en ningún otro experimento y se trata de un QTL

sugestivo, significativo a nivel cromosómico. Por lo que respecta al QTL del cromosoma 12, significativo al 5% cromosómico, mapea a 93 cM (cuadro 3), entre los microsatélites S0106 y SWR1021, en la misma región del QTL detectado por HIROOKA *et al.* (2001).

El QTL del cromosoma 10 se localiza en la posición 73 (cuadro 3), entre los microsatélites SW1991 y SW1626. Es un QTL significativo al 1% genómico (figura 1). El QTL del cromosoma 10 se encuentra en una posición coincidente con los QTL descritos previamente por otros autores para este carácter. En todos estos experimentos previos intervenía la raza *Meishan* siendo los alelos de esta raza los que mostraban efectos favorables para el carácter. En el cruce realizado por DRAGOS-WENDRICH *et al.* (2003) entre Jabalí y *Meishan*, son los alelos de Jabalí los que muestran el efecto favorable.

HIROOKA *et al.* (2001) indican la existencia de imprinting paterno para el QTL del cromosoma 10. Sin embargo, en nuestro experimento, no se ha podido detectar la existencia de imprinting. Para este cromosoma se ha probado también un modelo que contempla la existencia de dos QTL para el número de mamas. Los resultados indican como mas probable la existencia de un único

Cuadro 2. QTL significativos para el número de mamas en los cromosomas 5, 10 y 12: posición en el cromosoma, efectos aditivo (*a*) y dominante (*d*) y umbrales de significación a nivel cromosómico y genómico

Cromosoma	Posición	<i>a</i> (se)	<i>d</i> (se)	F	U. Cromosomico	U. Genómico	
					p = 0.05	0.05	0.01
SSC5	27 cM	0.73 (0.19)	-0.03 (0.37)	6.99	5.02	8.92	9.94
SSC10	73 cM	0.72 (0.15)	-0.09 (0.26)	11.89	4.98	8.59	9.89
SSC12	93 cM	0.55 (0.16)	-0.15 (0.26)	5.62	4.99	8.73	10.45

QTL puesto que no se mejora el ajuste de forma significativa respecto al modelo de un locus.

Aunque la identificación de posibles genes responsables del efecto sobre el

carácter no parece obvia, la confirmación de una región del genoma responsable de la expresión del mismo es interesante de cara a su posible uso en un programa de selección asistida por marcadores.

Cuadro 3. Mapa de ligamiento de los cromosomas 5, 10 y 12

SSC5	Marcador	SJ024	SWR453	SW2425	S0005	SW1987	IGF1	SW378
	Posición	0	44.4	55.0	71.0	80.4	98.6	117.3
SSC10	Marcador	S0038	SW1894	SW2195	S0070	SW1991	SW1626	SWR67
	Posición	0	24.8	40.1	52.3	65.9	93.7	103.4
SSC12	Marcador	SW2490	SW2494	SW1307	SW874	SW1956	S0106	SWR1021
	Posición	0	10.4	42.5	57.8	70.1	83.1	98.5

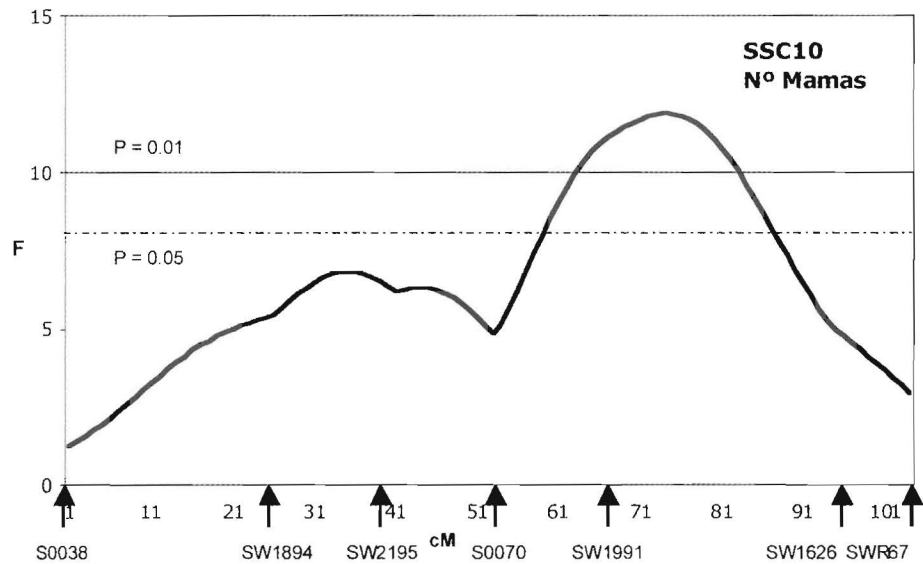


Figura 1. Perfil del valor F para distintas posiciones y umbrales de significación a nivel genómico para el número de tetinas, considerando un modelo con un único QTL.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto AGL2000-1229

Bibliografía

- ALVES *et al.*, 2003. *Animal Genetics* 34: 319-324.
- BIECKMANN *et al.*, 2003. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 120: 1-10.
- BIDANEL *et al.*, 2000. *Journées de la Recherche Porcine en France* 32: 369-383.
- CASSADY *et al.*, 2001. *Journal of Animal Science* 79: 623-633.
- CHURCHILL G.A., DOERGE R.W., 1994. *Genetics* 138, 963-971.
- CLARKE G.M., *et al.*, 1992. *Evolution* 46: 753-762.
- DESPRES *et al.*, 1992. *Journées de la Recherche Porcine en France* 24: 345-350.
- DRAGOS-WENDRICH *et al.*, 2003. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 120: 82-88.
- GREEN *et al.*, 1990. *Documentacion CRI-MAP*. <http://biobase.dk.Embnetut/Crimap>.
- HIROOKA H. *et al.*, 2001. *Journal of Animal Science* 79: 2320-2326.
- IANNUCELLI E. *et al.*, 1996. *Proceedings of the International Society of Animal Genetics Conference*. Tours, Francia.
- KING *et al.*, 2003. *Biology of Reproduction* 68: 2172-2179.
- KNOTT S.A. *et al.*, 1995. *Genetics* 149: 1069-1080.
- ROHRER G.A., 2000. *Journal of Animal Science* 78: 2547-2553.
- RON M. *et al.*, 1995. *Animal Genetics* 26: 439-441.
- SEATON G. *et al.*, 2002. *Bioinformatics* 18: 339-340.
- TORO *et al.*, 1986. *Génétique, Selection, Evolution* 18 (2): 49-59.
- WADA *et al.*, 1998. *Proc. 6th World Cong. Genet Appl. Livest. Prod.* (Armidale) 26.

ESTUDIO DE ASOCIACIÓN ENTRE EL GEN PrP Y LA FERTILIDAD DE MACHOS DE LA RAZA LACAUNE

E. Bonnet, J.M. Elsen, Z.G. Vitezica, L. Bodin

Station d'Amélioration Génétique des Animaux,
INRA, BP 27, 31326 Castanet-Tolosan Cedex,
Francia.bodin@toulouse.inra.fr

Introducción

La inseminación artificial (IA) es una herramienta indispensable en la organización de todo esquema de selección. La fertilidad es un carácter difícil de cuantificar debido a que depende de diferentes procesos fisiológicos. El comportamiento sexual de los carneros implicados en la IA tiene en cuenta dos aspectos esenciales. Primero, la capacidad del animal de producir semen (volumen, concentración, motilidad), y segundo, el valor fecundante de ese semen una vez utilizado.

Las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET) engloban un grupo de enfermedades neurodegenerativas causadas por priones que afectan a diferentes especies animales, incluida la humana. El prurigo lumbar o *scrapie* es una enfermedad de la especie ovina que pertenece al grupo de las EET. La resistencia-susceptibilidad a esta enfermedad depende en gran parte del polimorfismo de los codones 136, 154 y 171 del gen PrP (ELSEN *et al.*, 1999; DÍAZ *et al.*, 2003). De las posibles combinaciones de los 3 codones, 136 (A/V), 154 (R/H) y 171 (R/H/Q), el alelo ARR confiere resistencia a la enfermedad mientras que el alelo VRQ está asociado a alta susceptibilidad. Recientemente se ha demostrado que la proteína del prión, codificada por el gen PrP

y responsable del scrapie, forma parte integrante de la estructura de los espermatozoides (GATTI *et al.*, 2002).

La selección de animales portadores del alelo resistente se considera como una posible vía para mejorar la resistencia al scrapie. En este marco, algunos países como Holanda, Gran Bretaña y Francia han implementado programas de mejora por selección de la resistencia a esta enfermedad. Bajo la hipótesis de que existe una asociación entre un determinado genotipo y la fertilidad de los machos, la selección de animales portadores de genotipos resistentes al scrapie podría acarrear efectos no deseables en un esquema de selección. En este contexto, el objetivo de este trabajo es estudiar una posible asociación entre los genotipos del gen PrP y la producción y calidad del semen de machos de IA en la raza Lacaune.

Materiales y Métodos

Los datos analizados provienen de *La Confédération des producteurs de lait de brebis et des industriels de Roquefort*. Dichos datos corresponden a 4825 extracciones de semen de 351 machos de raza Lacaune, presentes en el centro de IA para

el servicio de la campaña 1999. Debido a que la mayor parte de los animales no están genotipados para los codones 136 y 154, nos hemos limitado a estudiar el 'efecto alelo' del codón 171.

$$y_{i-p} = by_i + sd_j + m_k + md_l + c_{171m} + s_n + a_{i,m,n,o} + e_{i-p}$$

Las variables estudiadas fueron el volumen, la concentración, la motilidad y el número de espermatozoides del semen. Se utilizaron dos modelos. En el primer modelo se estudió el efecto propio del alelo Q o R del codón 171.

donde

y_{i-p} corresponde a la variable estudiada,

by_i es el año de nacimiento de los machos. Los animales fueron agrupados en 5 clases ($i=1-5$): 1992-1995, 1996, 1997, 1998 y 1999,

sd_j cuantifica el intervalo de tiempo de descanso que existe entre dos extracciones sucesivas de semen del mismo carnero.

m_k corresponde al mes dentro de la estación sexual en el que se realizó la extracción de semen,

md_l es el momento del día (por la mañana o por la tarde) en el que se saca el semen,

$c_{171,m}$ representa las formas alélicas (Q o R) en el codón 171 del carnero,

s_n es el efecto aleatorio del padre del carnero y

$a_{i,m,n,o}$ es el efecto aleatorio del carnero.

En el segundo modelo se estudió el efecto de la transmisión del alelo Q o R del padre sobre las características del semen de su hijo. El codón 171 fue considerado como un marcador de un QTL próximo y los análisis se realizaron intra-padre según el siguiente modelo:

$$y_{i-p} = by_i + sd_j + m_k + md_l + c_{171p_m} + s_n + a_{i,m,n,o} + e_{i-p}$$

donde el c_{171p} representa las formas alélicas (Q o R) en el codón 171 del carnero que recibió de su padre. El número de extracciones involucradas en este análisis fue de 465 correspondientes a 34 carneros.

El programa SAS (SAS Institute Inc., 1999) fue utilizado para estudiar la pertinencia de los diferentes efectos fijos del modelo y para testar la posible asociación con el gen PrP. Los procedimientos SAS utilizados fueron Proc GLM y Proc Mixed.

Resultados y discusión

Los resultados para las diferentes variables estudiadas se muestran en el cuadro 1. Los valores medios y la desviación estándar ($\mu \pm \sigma$) están expresados en ml para el volumen, en millones de espermatozoides/ml para la concentración y en millones para el número de espermatozoides.

Volumen

Se puede observar que el intervalo de reposo del animal entre dos extracciones sucesivas fue significativo sobre el volumen de semen ($p < 0,01$). Este factor fue el que más influye sobre las variaciones del volumen (R^2 parcial de 1,68%). Cuando las extracciones se hacen 6 días sobre 7, el volumen se redujo como consecuencia de un 'efecto agotamiento' que sufren los animales. La extensión del período de reposo condujo a volúmenes por debajo de los valores medios. La alternancia entre un día de extracción y un día de descanso apareció como la mejor combinación. Similares

resultados fueron encontrados para la raza Lacaune por DUVAL (1990).

El segundo efecto significativo en el modelo fue el mes de extracción ($p<0.01$). Este fenómeno lo explica el hecho de que de los 5 meses de extracción (mayo-septiembre), es en el mes de junio donde se saca la mayor proporción de semen. En consecuencia, el volumen de ese mes se reduce con respecto al valor medio de la estación. DUVAL (1990) estudió el mismo efecto considerando en el análisis la sema-

na de extracción y no el mes. Los resultados fueron similares concluyendo que esta reducción puede deberse a un efecto de agotamiento junto con un efecto propio de la estación sexual (días decrecientes).

Una práctica común en los centros de IA consiste en sacar el semen en dos momentos específicos del día: por la mañana o por la tarde. Esta práctica no afectó al volumen de semen extraído de los carneros. El año de nacimiento de los animales tampoco tuvo influencia en el volumen.

Cuadro I. Valores obtenidos en el análisis del volumen, de la concentración, de la motilidad y del número de espermatozoides del semen de carneros Lacaune en IA

	Volumen	Concentración	Motilidad	Número de espermatozoides
R ²	0,50	0,64	0,67	0,49
$\mu \pm \sigma$	2,0 $\pm$ 0,46	4492 $\pm$ 523	4,4 $\pm$ 0,70	9255 $\pm$ 2488
Efecto año (<i>by</i>)	ns	ns	ns	ns
Efecto intervalo (<i>sd</i>)	***	***	***	***
Efecto mes (<i>m</i>)	***	***	***	***
Efecto día (<i>md</i>)	ns	ns	**	ns

** $p<0,05$, *** $p<0,01$, ns: no significativo.

Concentración

Los factores que determinan cambios en la concentración son los mismos que actúan sobre el volumen. El efecto del mes de extracción (R^2 parcial de 2,3%) y el efecto del intervalo entre extracciones (R^2 parcial de 0,7%) presentaron resultados significativos ($p<0,01$).

Motilidad

Los factores correspondientes al intervalo y al mes también fueron significativos

para la motilidad ($p<0,01$). La motilidad se reduce a medida que pasan los meses de extracción como consecuencia del agotamiento de los machos. Estos resultados son similares a los descritos por DUVAL (1990). La motilidad también se ve afectada por el momento del día en el cual se hace la extracción ($p<0,05$). Los mayores valores se observan por la tarde. Sin embargo, la diferencia observada entre estos dos momentos del día es de sólo 0.8 puntos de motilidad en una escala de 1-5. Estos resultados deberán ser confirmados por otros estudios.

Número de espermatozoides

Las variaciones observadas en el volumen y en la concentración se reflejan directamente en el número de espermatozoides. El efecto del intervalo entre extracciones y el mes de extracción presentan resultados significativos ($p < 0,01$).

Estudio de asociación entre distintas características del semen y el genotipo en el codón 171

A partir del primer análisis, el genotipo del codón 171 no presentó efecto alguno sobre la concentración ni la motilidad. Sin embargo, el efecto fue significativo para las variables volumen y número de espermatozoides ($p < 0,05$). Los animales homocigotos resistentes RR ($n=140$) presentaron los valores más altos para ambas variables, mientras que los individuos homocigotos QQ ($n=175$) presentaron valores próximos a la media general. Por su parte, los machos heterocigotos RQ ($n=36$) tuvieron los peores valores. Los valores observados en ambas variables para los individuos portadores de QQ, QR y RR nos podrían hacer pensar en un efecto de dominancia, tal que R sería el alelo recesivo y Q el dominante. Sin embargo, se podría plantear la hipótesis

de que el efecto directo del alelo R sobre el volumen y el número de espermatozoides sea sólo fortuito.

Para testar esta hipótesis se hicieron dos análisis. En primer lugar, se observó que la diferencia entre los valores de volumen y número de espermatozoides, para los animales portadores de QQ y QR, no fueron significativas. En segundo lugar, se estudió el efecto de la transmisión del alelo Q o R del padre a su hijo sobre su producción de semen. Para ello se seleccionaron los padres que tuvieran al menos un hijo QQ y otro RR, obteniendo como datos 465 extracciones pertenecientes a 34 carneros hijos de 9 padres.

Con el objetivo de asegurar la representatividad de la muestra, se estimó la repetibilidad y la varianza residual del volumen y del número de espermatozoides. Los valores estimados a partir de los datos de la muestra fueron similares a las estimaciones realizadas utilizando el total de extracciones. Sobre dicha muestra se estudió: 1) el efecto directo del genotipo Q o R sobre la producción, y 2) el efecto de la transmisión del alelo Q o R del padre sobre las características del semen de su hijo (cuadro 2). Este último efecto correspondería al del alelo en el codón 171 actuando como un marcador molecular de genes que codifiquen para calidad del semen.

Cuadro 2. P-valores obtenido para el efecto del genotipo del codón 171 sobre el volumen, la concentración, la motilidad y el número de espermatozoides del semen de carneros en IA

	Volumen	Concentración	Motilidad	Número de espermatozoides
Efecto directo	0,42	0,55	0,27	0,97
Efecto marcador	0,98	0,81	0,93	0,65

Se puede observar que los p-valores de los dos análisis (efecto directo y marcador) no indicarían una asociación entre las características del semen y el genotipo Q o R del codón 171. Los resultados obtenidos confirman la hipótesis de una simple "coincidencia" debida probablemente al desbalance en el número de animales de cada grupo de genotipos.

Conclusión

Sobre la base de este análisis, podemos concluir que no se observa asociación entre los polimorfismos del codón 171 y la producción y calidad del semen de machos de IA de la raza Lacaune. Estos resultados coinciden con diferentes estudios de asociación realizados sobre el gen PrP y distintos caracteres de producción (RODEN *et al.*, 2001; BARILLET *et al.*, 2002; PROKOPOVA *et al.*, 2002; BRANDSMA *et al.*, 2004).

Agradecimientos

Los autores agradecen a la *Confédération des producteurs de lait de brebis et des industriels de Roquefort* por el suministro de los datos, y a Michel Briois por su ayuda y consejos en el análisis de la información.

Bibliografía

- BARILLET F., ANDREOLETTI O., PALHIÈRE I., AGUERRE X., ARRANZ J.M., MINERY S., SOULAS C., BELLOC J.P., BRIOIS M., FREGEAT G., TEINTURIER P., AMIGUES ASTRUC J.M., BOSCHER M.Y., SCHELCHER F. 2002. Breeding for scrapie resistance using PrP genotyping in the french dairy sheep breeds. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Communication N° 20, Session 13, Disease resistance.
- BRANDSMA J.H., JANSSE L.L.H., VISSCHER A.H., 2004. Association between PrP genotypes and litter size and 135 days weight in Texel sheep. Liv.Prod.Sci., 85: 59-64.
- DÍAZ C., VITEZICA Z.G., RUPP R., ELSSEN J.M., 2003. El uso de la predicción de genotipos en el análisis de supervivencia: un caso de scrapie. ITEA Vol. Extra 24 (II): 456-458.
- DUVAL P., 1990. La maîtrise de la reproduction en race Lacaune lait: fonction sexuelle des béliers et fertilité des brebis en IA. Mémoire de fin d'étude. INRA-SAGA. 140p.
- ELSEN J.M., AMIGUES Y., SCHELCHER F., DUCROCQ V., ANDREOLETTI O., EYCHENNE F., TIEN KHANG J.V., POIVEY J.P., LANTIER F., LAPLANCHE J.L., 1999. Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie: details analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. Arch.Virol. 144: 431-445.
- GATTI J.L., MÉTAYER S., MOUDJOU M., ANDREOLETTI O., LANTIER F., DACHEUX J.L., SARRADIN P., 2002. Prion protein is secreted in soluble forms in the epididymal fluid and proteolytically processed and transported in seminal plasma. Biology of reproduction, 67: 393-400.
- PROKOPOVA L., LEWIS R.M., DINGWALL W.S., SIMM G., 2002. Scrapie genotype: a correlation with lean growth rate? 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Communication N° 44, Session 13, Disease resistance.
- RODEN J.A., HARESIGN W., ANDERSON J.M.L., 2001. Analysis of PrP genotype in relation to performance traits in Suffolk sheep. Proc.Brit.Soc.An.Sc. 45.
- SAS Institute Inc., 1999. SAS Institute Inc., SAS OnlineDoc®, Version 8. Cary, North Carolina.
- BARILLET F., ANDREOLETTI O., PALHIÈRE I., AGUERRE X., ARRANZ J.M., MINERY S., SOULAS C., BELLOC

ESTUDIO DE LA RELACIÓN GENÉTICA ENTRE LOS CARACTERES FACILIDAD DE PARTO MATERNA Y FERTILIDAD DE LA HEMBRA EN EL GANADO VACUNO LECHERO DE LA CAPV

E. López de Maturana, A. Legarra, E. Ugarte

NEIKER, A.B. Instituto vasco de investigación y desarrollo agrario. Apdo. 46, 01080, Vitoria-Gasteiz, España

Correo electrónico: elmaturana@neiker.net

Introducción

La mejora genética tiene como objetivo modificar el mérito genético en las generaciones siguientes para que los animales produzcan de forma más eficiente. En el caso del vacuno de leche, los caracteres que influyen en la eficiencia de producción pueden diferenciarse principalmente entre caracteres de producción (leche y carne) y caracteres funcionales. El término de caracteres funcionales se utiliza para resumir las características del animal que incrementan la eficiencia de producción, no aumentando los ingresos (*outputs*) sino reduciendo los costes (*inputs*) (GROEN *et al.*, 1997). GROEN y colaboradores (GROEN *et al.*, 1997) recomendaron el estudio de caracteres como salud, facilidad de parto, fertilidad, eficiencia en la utilización del alimento y adaptabilidad al ordeño dentro de la categoría de caracteres funcionales.

Actualmente, como consecuencia del sistema de cuotas y del descenso del precio de la leche, el sector del vacuno de leche comienza a demandar la inclusión dentro del objetivo de selección de dichos caracteres funcionales con el fin de incrementar la rentabilidad (ALENDA y CARABAÑO, 2002). Los ganaderos no reclaman un animal más

productivo, sino que buscan un animal que mantenga su producción y que no de problemas.

En el caso particular del carácter facilidad de parto, la reducción de la incidencia de partos distócicos en la explotación tiene importancia tanto desde un punto de vista productivo como reproductivo, ya que la presencia de una distocia en la explotación induce a pérdidas económicas notables, no sólo asociadas a la disminución de la producción, pues puede ocasionar la muerte de la vaca y/o el ternero, disminuir la fertilidad, aumentar los gastos veterinarios y los requerimientos de mano de obra (DEMATHEWA y BERGER, 1997; 1998).

En la Comunidad Autónoma del País Vasco, la valoración genética del carácter facilidad de parto se puso en marcha en el año 1995 (ALDAY y UGARTE, 1997). Desde entonces, el sistema de evaluación genética ha sufrido cambios y mejoras tanto en la recogida del dato como en el análisis y presentación de los resultados (LÓPEZ DE MATURANA *et al.*, 2003). Sin embargo, las relaciones de este carácter con otros caracteres funcionales como la fertilidad no han sido abordadas aún. El presente estudio tiene como objetivo analizar la posible relación genética entre los caracteres de facili-

dad de parto materna (FPM) y fertilidad de la hembra en el siguiente ciclo reproductivo dentro de la población frisona de la CAPV.

Material y métodos

Elección del carácter de fertilidad de la vaca

La fertilidad de una vaca se puede definir como la habilidad para producir una descendencia viva durante un periodo económica y fisiológicamente adecuado (HYPPÄNEN y JUGA, 1998). DE JONG (1997) definió una vaca con una buena fertilidad como un animal en lactación que muestra su celo a tiempo y se queda gestante tras la primera inseminación.

Ambas definiciones son muestra de la subjetividad existente en la definición de este carácter habiéndose utilizado para su estudio a lo largo del tiempo distintos tipos de medidas. Es necesario tener en cuenta que muchas de las medidas de fertilidad pueden verse afectadas por el manejo del ganadero. Por ejemplo, es éste quien determina, en función del mérito genético para producción del animal, determinados aspectos como la duración del intervalo entre el parto y la primera inseminación para cada vaca o el número de inseminaciones. Como consecuencia de todo esto, existe un amplio rango de diferentes caracteres utilizados en las valoraciones genéticas realizadas en distintos países, evaluándose en algún país más de una medida, ya que ninguna medida sencilla parece describir toda la variabilidad genética asociada al carácter fertilidad de la hembra (MARK, 2003).

Los distintos caracteres considerados en las evaluaciones genéticas nacionales de los

diferentes países miembros de Interbull se pueden resumir (MARK, 2003) en:

1. Habilidad de la hembra para concebir:

- a. Tasa de no retorno (a 56, 60 o 90 días)
- b. Días desde la primera hasta la última inseminación.
- c. Tasa de concepción en cada inseminación (0/1).
- d. Número de inseminaciones hasta la preñez o por periodo de inseminación.
- e. Permanencia del ternero con la madre en el periodo de lactancia (0/1)

2. Habilidad para retornar al estro:

- a. Días desde el parto hasta la primera inseminación.
- b. Número de vacas a inseminar en un ciclo de 21 días.
- c. Fuerza del celo (carácter recogido de forma subjetiva)
- d. Existencia de tratamientos de fertilidad (0/1).

3. Combinación de ambas medidas:

- a. Días desde el parto hasta la última inseminación o la concepción (intervalo parto-concepción).
- b. Intervalo entre partos.

Entre otros aspectos, la elección de la medida de fertilidad que se va a utilizar en el análisis depende de la información que se pueda extraer de los datos de control lechero y de la recogida o no de las inseminaciones que tienen lugar en las explotaciones. En el caso de la Comunidad Autónoma del País Vasco, dentro del programa de control lechero, se recoge la fecha de cada inseminación realizada, así como el número de

inseminación correspondiente a cada lactación, el toro inseminador y el código del inseminador. Teniendo esto en cuenta, las medidas de fertilidad disponibles en esta población para la realización de este estudio fueron:

1. *Habilidad de la hembra para concebir:*

- Resultado de la primera inseminación.
- Número de inseminaciones.

2. *Habilidad para retornar al estro:*

- Intervalo parto- primera inseminación (IPPIA).

3. *Combinación de ambas medidas:*

- Intervalo parto-concepción (IPC).

Entre todos ellos, la medida de fertilidad elegida fue el intervalo parto-concepción por ser la medida que explica tanto la habilidad de la hembra para concebir como para retornar al estro.

Tratamiento y análisis de los datos

Como se ha comentado en el apartado anterior, los datos utilizados en este estudio proceden de los registros del control leche-

ro, donde se recoge el dato de facilidad de parto, y de los datos referentes a las inseminaciones efectuadas en la Comunidad Autónoma del País Vasco. Para este estudio sólo se utilizaron los partos ocurridos entre los años 1995 y 2002.

El carácter FP se agrupó en 3 categorías. La edición y depuración de datos se realizó de acuerdo a lo explicado en LÓPEZ DE MATURANA *et al.* (2003).

Respecto al carácter IPC, se exigió que el grupo de comparación tuviera al menos 5 datos, que los animales tuvieran el dato de primera inseminación recogido y se eliminaron aquellos datos que se consideraron anómalos (fechas aberrantes) y aquellos registros en los que no se disponía de la información sobre los dos caracteres.

Los cuadros 1 y 2 resumen las características de los datos utilizados en el análisis. Como se puede apreciar en el cuadro 1, se observa una mayor incidencia de la clase 3 en novillas que en vacas de segundos partos, o considerando todos los partos.

En la figura 1, que representa el histograma de frecuencias del carácter IPC, se puede observar que éste no sigue una distribución normal.

Cuadro 1. Características de los datos de facilidad de parto materna (FPM)

Número de parto	% datos en clase 1	% de datos en clase 2	% de datos en clase 3
1º	20,58	76,06	3,36
2º	14,99	83,02	1,99
Todos los partos	18,19	79,04	2,77

Clase 1: parto sin ayuda; Clase 2: parto con ligera ayuda; Clase 3: parto difícil.

Cuadro 2. Características de los datos del intervalo parto concepción (IPC)

Número de parto	Registros	Nº vacas en datos	$\bar{X}$	D. E.
1º	6433	6433	122,31	74,96
Todos los partos	11256	6848	122,18	72,42

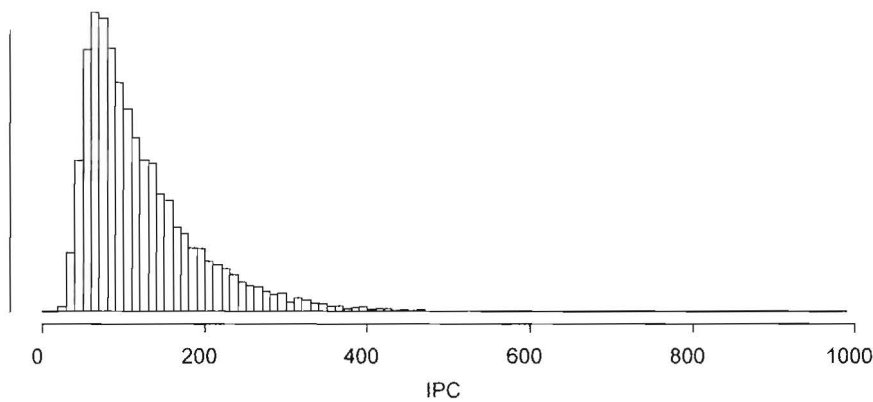


Figura 1. Histograma de frecuencias del carácter IPC.

Modelos de análisis

Para determinar qué efectos no genéticos afectan de forma significativa a cada carácter, se realizaron análisis de varianza me-

dante el procedimiento GLM del paquete informático SAS (SAS, 1996). En el cuadro 3 se muestran los resultados del análisis de varianza de correspondientes a ambos caracteres.

Cuadro 3. Resultados del análisis de varianza para los caracteres FPM e IPC

Carácter	Modelo	R ²
FPM	Rac*** + mespar*** + razat*** + npsexo*** + toropar***	0,59
IPC	Rae *** + mes ** + ippia *** + npedad * + toro ***	0,42

***: p<0,001; **: p<0,01; *: p<0,05.

Los efectos no genéticos en el caso del carácter facilidad de parto materna fueron la interacción del rebaño-año-controlador (rac), el mes de parto (mespar), la raza del toro (razat), la interacción del número de partos (primeros y posteriores) con el sexo del ternero (npsexo), y el toro (toropar).

En el caso del carácter intervalo parto-concepción, los efectos no genéticos son la interacción rebaño-año-estación de parto (considerándose 2 estaciones: de noviembre a abril y de mayo a octubre) (rae), el mes de la inseminación fecundante (mes), el intervalo parto- primera inseminación (ippia), que osciló entre 22 y 299 días y fue agrupado en 14 niveles, el toro de la inseminación fecundante (toro), y la interacción n° de parto- edad (npedad), para la cual se definieron 3 grupos de animales en función del número de parto: vacas de primero, segundo y tercer parto y posteriores, definiéndose a su vez para cada grupo 3 grupos de edad: 1.1) ≤ 25 meses, 1.2) entre 26 y 29 meses y 1.3) > 29 meses; 2.1) entre 31 y 36 meses, 2.2) entre 37 y 40 meses y 2.3) ≥ 41 meses; y 3.1) ≥ 53 meses, 3.2) entre 54 y 62 meses y 3.3) ≥ 63 meses.

Respecto a los efectos genéticos, en ambos caracteres se consideró el efecto de la vaca como efecto genético aditivo.

Una vez determinados los efectos a incluir en cada modelo, se realizaron 2 análisis:

a) *Modelo bicarácter lineal-umbral considerando sólo los primeros partos (Análisis 1)*

$$IPC_{ijklmno} = rae_i + mes_j + ippia_k + npedad_l + toro_m + Vaca_n + e_o$$

$$FPM_{ijklmno} = rac_i + mespar_j + razat_k + npsexo_l + toropar_m + Vaca_n + e_o$$

Para el carácter IPC, los efectos rae (922 niveles), mes (12 niveles), ippia (14 niveles), npedad (3 niveles), se consideraron como efectos fijos, asumiendo que siguen una distribución uniforme. Como efectos aleatorios, se consideraron el toro (470 niveles) y la vaca (6433 niveles), asumiendo que siguen, respectivamente, las siguientes distribuciones $N(0, I\sigma_{toro}^2)$ y $N(0, A\sigma_g^2)$, donde A es la matriz de parentesco.

Para el carácter FPM, se consideraron como efectos fijos mespar (12 niveles), razat (2 niveles), npsexo (2 niveles), asumiendo que se distribuyen uniformemente, mientras que como efectos aleatorios se consideraron el rac (783 niveles), el toropar (479 niveles) y la vaca (6433 niveles), asumiendo que siguen las siguientes distribuciones $N(0, I\sigma_{rac}^2)$, $N(0, I\sigma_{toropar}^2)$ y $N(0, A\sigma_g^2)$, respectivamente.

b) *Modelo bicarácter lineal-umbral considerando todos los partos (Análisis 2):*

$$IPC_{ijklmnop} = rae_i + mes_j + ippia_k + npedad_l + toro_m + Vaca_n + pe_o + e_p$$

$$FPM_{ijklmnop} = rac_i + mespar_j + razat_k + npsexo_l + toropar_m + Vaca_n + pe_o + e_p$$

Además de los efectos considerados para cada carácter en el modelo anterior, se incluyó el efecto permanente (pe, con 6848 niveles), asociado al efecto vaca, que sigue la siguiente distribución $N(0, I\sigma_{pe}^2)$. El número de niveles para cada efecto varió respecto al análisis 1 (rae (932 niveles), mes (12 niveles), ippia (14 niveles), npedad (9 niveles), toro (488 niveles), pe (6848 niveles), rac (791 niveles), mespar (12 niveles), razat (2 niveles), npsexo (4 niveles) y toropar (545 niveles)).

Estimación de parámetros genéticos

La naturaleza categórica del carácter facilidad de parto materna hace difícil la estimación de los parámetros genéticos por un método REML o similar, especialmente en lo referente a la estimación de las varianzas residuales (HOESCHELE y TIER, 1995). El método que se utiliza de manera más frecuente en el análisis de datos categóricos es la inferencia bayesiana mediante muestreo de Gibbs, unido a la técnica de aumento de datos para la generación de la variable subyacente (SORENSEN *et al.*, 1995; ALBERT y CHIB, 1993). Este es el análisis utilizado en el presente estudio y fue realizado mediante un programa originalmente escrito por Luis Varona, y modificado *ad hoc*.

Las distribuciones a priori que se consideraron tanto para los parámetros de localización como para los componentes de varianza fueron planas acotadas.

Las distribuciones condicionales posteriores de los parámetros de localización fueron distribuciones normales univariadas, mientras que para los componentes de varianza se

utilizaron distribuciones Wishart invertidas. Los dos umbrales del carácter FPM se fijaron arbitrariamente a 0 y 10.

Se lanzó una única cadena de 500.000 muestras para cada uno de los análisis y se descartaron las 150.000 primeras. De las restantes, únicamente se guardó una muestra de cada 50 iteraciones que fueron utilizadas para computar las medias posteriores y las desviaciones estándar de los parámetros de interés.

Resultados y discusión

Análisis de convergencia

En ambos modelos, se realizó un análisis visual de las trazas de las cadenas, así como de las medias de los parámetros de interés (*running mean*) obtenidas, una vez descartado el burn-in, tras cada iteración. En este trabajo, únicamente se presentan las trazas y *running means* correspondientes a la correlación genética, en las figuras 2 a 5.

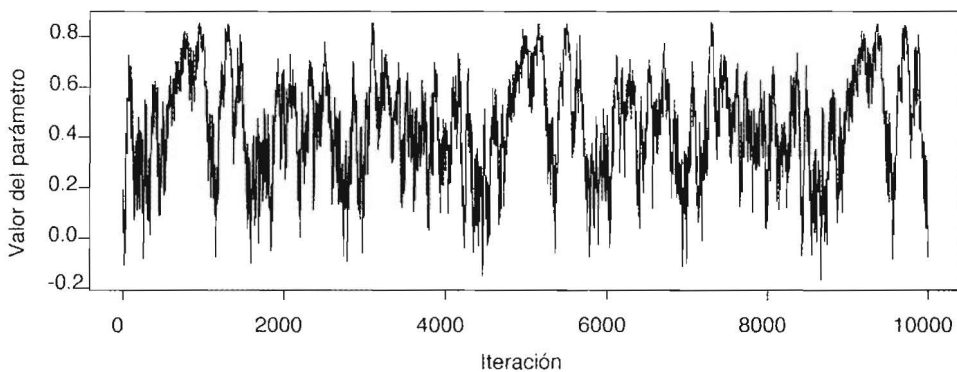


Figura 2. Trazas de la correlación genética entre FPM e IPC para primeros partos.

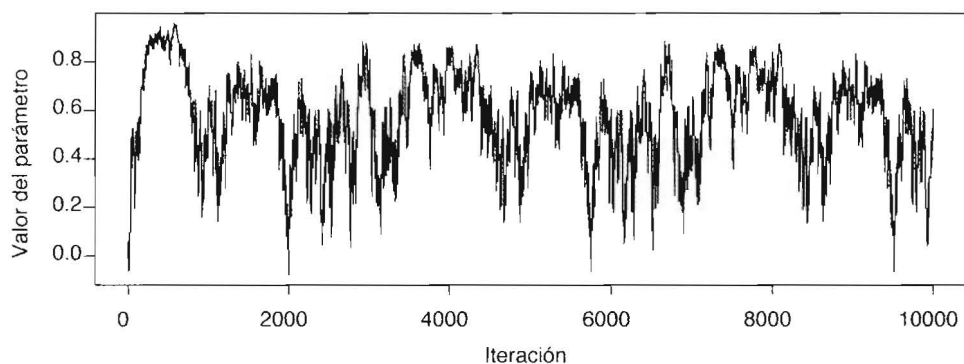


Figura 3. Traza de la correlación genética entre FPM e IPC considerando todos los partos.

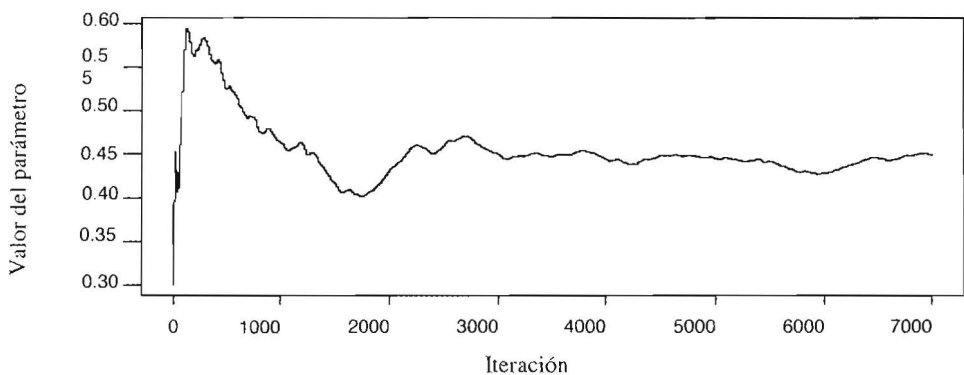


Figura 4. *Running mean* de la correlación genética entre los caracteres FPM e IPC en primer parto.

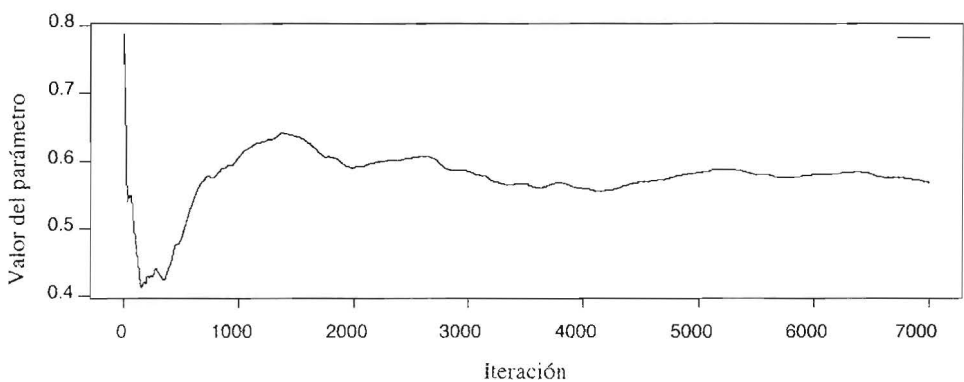


Figura 5. *Running mean* de la correlación genética entre los caracteres FPM e IPC para todos los partos.

Aparentemente, el análisis convergió a una distribución posterior. A pesar de que las *running means* muestran aún una cierta incertidumbre, ésta parece moverse dentro de unos límites aceptables al final del muestreo.

Heredabilidades y correlaciones

El cuadro 4 presenta las medias y desviaciones estándar de las distribuciones marginales posteriores de las heredabilidades y correlaciones genéticas obtenidas con los dos modelos.

La media posterior de la heredabilidad para el carácter FPM considerando únicamente los primeros partos (figura 6), difiere de la obtenida considerando todos los partos (figura 7). Este resultado puede deberse al hecho de que la aparición de distocias es más frecuente en primeros partos que en partos posteriores (ver cuadro 1), ya que la diferencia de frecuencias en cada categoría condiciona de forma importante los resultados (GIANOLA, 1982; WELLER y GIANOLA, 1989); así, una mejor distribución, permite obtener estimas de la heredabilidad superiores. Ambas estimas de heredabilidad, se encuentran dentro del rango de heredabilidades publicadas por otros autores (ALDAY y UGARTE, 1997; DRUET *et al.*, 2001; LÓPEZ DE MATURANA *et al.*, 2003; LUO *et al.*, 2002; STEINBOCK *et al.*, 2003; DUCROCQ, 2000; JEON, 2002). Las medias posteriores de las heredabilidades para el carácter IPC obtenidas tras los análisis de ambos modelos (figuras 8 y 9) son similares, y también se encuentran dentro del rango de las estimas de heredabilidad publicadas para este carácter (MARK, 2003; GONZÁLEZ RECIO *et al.*, 2003), aunque no son directamente comparables, puesto que se han obtenido utilizando modelos y metodologías diferentes.

Las estimas de heredabilidad obtenidas para ambos caracteres son bajas, lo que está en consonancia con la bibliografía. Esto se debe en gran parte a la dificultad existente en la recogida de los datos y a la naturaleza de los caracteres, condicionados por numerosos factores ambientales no controlados.

Respecto a las correlaciones genéticas entre ambos caracteres, la estima obtenida considerando todos los partos es ligeramente superior a la obtenida considerando únicamente los primeros partos (0,57 vs. 0,45). En ambos casos, la correlación genética es distinta de 0 ($p < 0,01$, en primeros partos y $p < 0,03$, en todos los partos). Las desviaciones estándar posteriores son elevadas (0,20 y 0,18) lo que refleja la dificultad en la estimación, que se puede explicar por la naturaleza categórica del carácter FPM, porque el carácter IPC no se ajusta a una distribución normal y por la poca precisión de los modelos en general. Por tanto, se puede afirmar que existe una moderada correlación genética positiva entre ambos caracteres, lo que indicaría que un animal valorado negativamente para el carácter facilidad de parto tenderá a ser genéticamente menos fértil, tomando como medida de fertilidad el IPC. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por LEE *et al.* (2003) únicamente considerando los primeros partos.

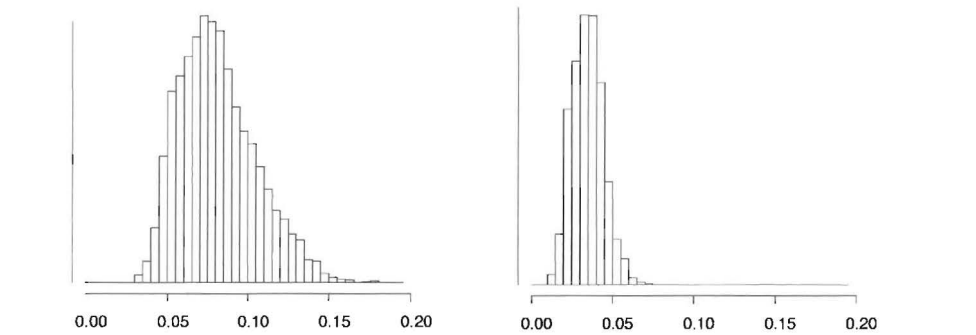
Las estimas de las correlaciones residuales entre ambos caracteres en ambos modelos son prácticamente nulas. Este hecho es sorprendente, dado que implicaría que aquellos factores no contemplados por el modelo que influyen en la facilidad de parto materna no influirían en la fertilidad del individuo en el siguiente ciclo productivo. El hecho de que no sean caracteres que se midan simultáneamente en el tiempo puede estar influyendo en esta baja estima.

Respecto al resto de efectos aleatorios considerados en ambos caracteres, las estimas de las proporciones de las varianzas de los mismos respecto a las varianzas totales en ambos modelos son similares, excepto para el efecto toropar para el carácter FPM, ya que la proporción de varianza de dicho efecto en relación a la varianza total es mayor cuando solo se consideran los primeros partos (0,025 vs. 0,011). Este hecho podría explicarse por la aparente mayor variabilidad que presenta el carácter FPM en los primeros partos en relación a la que presenta al considerar todos los partos. Se podría incluso hablar de caracteres diferentes como se sugiere en (LUO *et al.*, 2002), aunque otros estudios sugieren que son el mismo carácter genético, pero que ocurren en diferentes ambientes (BERGER y FREEMAN, 1978; THOMPSON *et al.*, 1981)

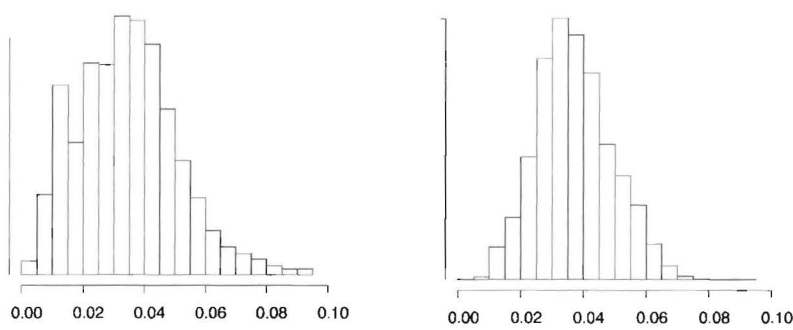
Cuadro 4. Medias, desviaciones estándar posteriores e intervalos de credibilidad de los parámetros en cada uno de los análisis

Parámetros	Primeros partos				Todos los partos			
	MP	DEP	IC 95 %		MP	DEP	IC 95 %	
h^2_{FPM}	0,081	0,024	0,045	0,134	0,035	0,009	0,018	0,055
h^2_{IPC}	0,034	0,016	0,008	0,071	0,037	0,012	0,015	0,062
$r_g (FPM - IPC)$	0,448	0,201	0,043	0,801	0,568	0,178	0,177	0,838
$r_{pe} (FPM - IPC)$	-	-	-	-	0,409	0,378	-	-
$r_e (FPM - IPC)$	0,009	0,032	-0,07	0,076	-0,006	0,025	-0,056	0,045
$\sigma^2_{toroinse} / \sigma^2_{total} - IPC$	0,242	0,023	0,186	0,277	0,240	0,019	0,204	0,280
$\sigma^2_{toropar} / \sigma^2_{total} - FPM$	0,025	0,008	0,011	0,044	0,011	0,005	0,004	0,022
$\sigma^2_{rac} / \sigma^2_{total} - FPM$	0,588	0,019	0,552	0,625	0,626	0,016	0,593	0,657
$\sigma^2_{pe} / \sigma^2_{total} - FPM$	-	-	-	-	0,015	0,007	0,004	0,031
$\sigma^2_{pe} / \sigma^2_{total} - IPC$	-	-	-	-	0,045	0,015	0,018	0,075

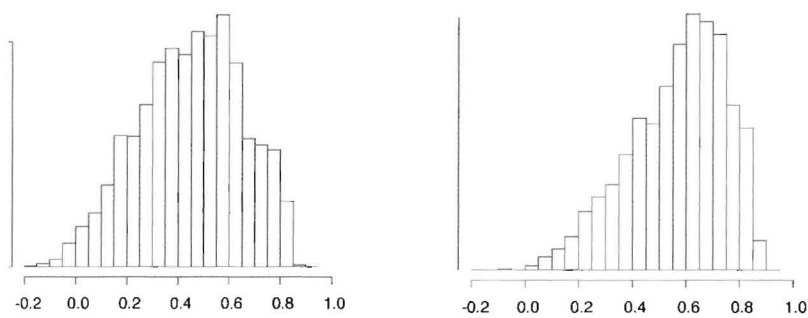
MP: media posterior; DEP: desviación estándar posterior; IC 95%: intervalo de credibilidad del 95 % r_g (FPM-IPC): correlación genética entre FPM e IPC; r_e : (FPM - IPC) correlación residual entre FPM e IPC.



Figuras 6 y 7. Histogramas posteriores de las heredabilidades del carácter FPM en los análisis 1 (primer parto) y 2 (todos los partos), respectivamente.



Figuras 8 y 9. Histogramas posteriores de las heredabilidades del carácter IPC en los análisis 1 (primer parto) y 2 (todos los partos), respectivamente.



Figuras 10 y 11. Histogramas posteriores de las correlaciones genéticas entre FPM e IPC en los análisis 1 (primeros partos) y 2 (todos los partos), respectivamente.

Conclusiones

Las estimas de correlación genética entre los caracteres de facilidad de parto materna e intervalo parto- concepción indican la existencia de una correlación genética positiva y moderada entre ambos. Este resultado debe entenderse como un resultado preliminar, ya que existen muchos factores que condicionan los mismos (la naturaleza de FPM, la influencia de prácticas de manejo en el carácter fertilidad, la subjetividad en la definición del carácter...). Además, si a esto se une el hecho de que la bibliografía existente es especialmente escasa, se hace necesario seguir estudiando y profundizando en este tema.

Agradecimientos

A Luis Varona, por su programa original de muestreo de Gibbs.

A los centros de gestión ganadera de la CAPV SERGAL, LORRA y LURGINTZA y a las asociaciones de frísón de la CAPV ASGAFAL, GIFE y BIFE, por los datos proporcionados que han posibilitado la realización del presente estudio.

El presente estudio ha podido ser realizado gracias a una beca concedida por la Fundación ‘Cándida Iturriaga’.

Bibliografía

- ALBERT J.H., CHIB S., 1993. Bayesian Analysis of Binary and Polychotomus Response Data. *Journal of the American Statistical Association*, 88, 669-679.
- ALDA S., UGARTE E., 1997. Genetic evaluation of calving ease in Spanish holstein population. *Interbull Bulletin*, 18, 21-24.
- ALEDA R., CARABAÑO M.J., 2002. Estado y demandas actuales de los programas de mejora . Vacuno de leche. XI Reunión Nacional de Mejora Genética Animal, Vol. 98A Nº 2, 83-101, Pamplona.
- BERGER P.J., FREEMAN A.E., 1978. Prediction for sire merit for calving difficulty. *Journal of Dairy Science*, 61, 1146-1150.
- DE JONG G., 1997. Index for daughters' fertility in the Netherlands. *Interbull Bulletin*, 18, 102-105.
- DEMATAWEWA C.M.B., BERGER P.J., 1997. Effect of Dystocia on Yield, Fertility and Cow losses and an Economic Evaluation of dystocia scores for Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 80, 754-761.
- DEMATAWEWA C.M.B., BERGER P.J., 1998. Genetic and Phenotypic Parameters for 305-Day Yield, Fertility, and Survival in Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 81, 2700-2709.
- DRUET T., SÖLKNER J., FÜRST C., GENGLER N., 2001. Estimation of additive genetic variance of reproduction traits in Austrian Simmental. *Interbull Bulletin*, 27, 128-132.
- DUCROCQ V., 2000. Calving ease evaluation of French Dairy bulls with a heteroskedastic threshold model with direct and maternal effects. *Interbull Bulletin*, 25, 123-130.
- GIANOLA D., 1982. Theory and analysis of threshold characters. *Journal of animal Science*, 54, 1079-1096.
- GONZÁLEZ RECIO O., PÉREZ-CABAL M.A., ALEDA R., 2003. Parámetros genéticos de los caracteres de fertilidad en el vacuno de leche. X Jornadas sobre Producción Animal, Volumen extra, Nº 24 Tomo II, 504-506, Zaragoza.
- GROEN A.F., STEINE T., COLLEAU J.J., PEDERSEN J., PRIBYL J., REINSCH N., 1997. Economic values in dairy cattle breeding, with special reference to functional traits. Report of an EAAP-working group. *Livestock Production Science*, 49, 1-21.
- HOESCHELE I., TIER B., 1995. Estimation of variance components of threshold characters by marginal posterior modes and means via Gibbs sampling. *Genetic Selection Evolution*, 27, 519-540.
- HYPPÄNEN K., JUGA J., 1998. Environmental and genetic effects on the 60-day nonreturn rate in Finnish AI bulls. *Interbull Bulletin*, 18, 91-98.
- JEON G.J., 2002. Genetic parameters of days open and calving difficulty for first parity korean holstein cattle using a threshold animal model with Gibbs Sampling. 7th World Congress on Genetics applied to Livestock Production, 29, 139-142. Montpellier.
- LEE D.H., HAN K.J., PARK B.H., 2003. Genetic Relationship between Milk Yields, Calving Ease and Days Open at First Lactation of Holstein Cows in Korea. *Interbull Bulletin*, 31, 122-129.
- LÓPEZ DE MATORANA E., UGARTE E., UGARTE C., 2003. Mejora del modelo de valoración actual para el carácter facilidad de parto en ganado vacuno frisón. X Jornadas de sobre Producción Animal., Volumen extra, nº 24 tomo II, 564-566, Zaragoza.
- LUO M.F., J. B.P., J.C.M. D., SCHAEFFER L.R., 2002. Estimation of genetic parameters of calving ease in first and second parities of Canadian Holsteins using Bayesian methods. *Livestock Production Science*, 74, 175-184.
- MARK T., 2003. Survey of Genetic Evaluations for Production and Functional traits in Dairy Cattle. 54th Annual meeting of the european association for animal production, Nº 9, 74, Roma.
- SAS, 1996. SAS/STAT Software: Changes and Enhancements through Release 6.11 1094 páginas. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- SORENSEN D.A., ANDERSEN S., GIANOLA D. y KORSGAARD L., 1995. Bayesian inference in threshold models using Gibbs sampling. *Genetics Selection Evolution*, 27, 229-249.
- STEINBOCK L., NÄSHOLM A., BERGLUND B., JOHANSSON K., PHILIPSSON J., 2003. Genetic effects on stillbirth and calving difficulty in swedish holsteins at first and second calving. *Journal of Dairy Science*, 86, 2228-2235.
- THOMPSON J.R., FREEMAN A.E., BERGER P.J., 1981. Age of dam and maternal effects for dystocia in Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 64, 1603-1609.
- WELLER J.J., GIANOLA D., 1989. Models for Genetic Analysis of Dystocia and Calf Mortality. *Journal of Dairy Science*, 72, 2633-2643.

IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS EN EL GEN DEL RECEPTOR DE ESTRÓGENOS 1 (*ESR1*) Y ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DEL *ESR1* Y *ESR2* SOBRE EL TAMAÑO DE CAMADA EN UNA LÍNEA SINTÉTICA DE CERDOS

G. Muñoz, C. Óvilo, L. Silió, A. Fernández, C. Rodríguez

Dpto. Mejora Genética Animal, INIA, Ctra de la Coruña KM 7.5, 28040 Madrid

Introducción

Los estrógenos son hormonas esteroideas que presentan importantes efectos relacionados con la gestación y sus funciones están mediadas por los receptores de estrógenos. El receptor de estrógeno alfa o *ESR1*, ha sido considerado como el único receptor que mediaba las funciones de la hormona, hasta la identificación de un nuevo receptor de estrógeno llamado beta o *ESR2*. Ambos receptores son factores de transcripción activados por ligando y presentan importantes funciones en el desarrollo sexual y en los procesos reproductivos.

El tamaño de camada es uno de los caracteres reproductivos más importantes en la producción porcina, ya que el mayor número de lechones por camada reduce el coste unitario por lechón destetado y conlleva un aumento de los beneficios económicos para los ganaderos. El gen del *ESR1* ha sido propuesto como gen candidato para el estudio de caracteres reproductivos. ROTHSCILD *et al.* (1996) detectaron un polimorfismo en este gen que se ha asociado al tamaño de camada en cerdos (SHORT *et al.*, 1997), aunque este efecto ha sido objeto de controver-

sia por otros autores (GIBSON *et al.*, 2002; NOGUERA *et al.*, 2003), que no detectaron esta asociación en otras poblaciones.

El gen del *ESR2*, descubierto más recientemente, presenta una alta afinidad por los estrógenos (TREMBLAY *et al.*, 1997) y se le relaciona con funciones estrogénicas implicadas en la maduración y desarrollo de folículos, así como en la regulación del crecimiento y desarrollo embrionario en el momento de la implantación (ROSENFELD *et al.*, 1999; KOWALSKI *et al.*, 2002). En un estudio reciente realizado por nuestro grupo (MUÑOZ *et al.*, 2004), se llevó a cabo el mapeo físico del gen *ESR2*, la detección de SNPs en diversas poblaciones de cerdos y se realizó el estudio del efecto de las variantes genéticas detectadas sobre el tamaño de camada en dos poblaciones de cerdo ibérico.

Debido a la homología estructural y fisiológica que comparten ambos receptores, se considera interesante realizar un estudio conjunto de ambos genes y de sus efectos sobre la prolificidad en una población comercial. El presente trabajo resume los resultados obtenidos hasta la fecha en esta investigación.

Material y métodos

Material

La línea genética utilizada, es una línea sintética formada durante nueve generaciones, a partir de animales de razas Meishan y Large White hiperprolífica. Esta nueva línea de cerdos, conjuga las excepcionales características maternas de la raza Meishan (elevada prolificidad, alto número de tetinas y buenas cualidades maternas) y unos rendimientos productivos adecuados a las demandas europeas de crecimiento y engrasamiento, aportados por las líneas hiperprolíficas Large White existentes en la actualidad y por la selección efectuada con ese objetivo.

ESR1

Secuenciación del ADNc

Para identificar otros SNPs de interés localizados en la región codificante, se realizó la secuenciación del ADNc del *ESR1*.

Las muestras utilizadas para la síntesis y secuenciación de ADNc corresponden a tejido ovárico y a músculo, obtenido de seis cerdas de raza ibérica (2 Guadyerbas y 4 Torbiscal) y a dos cerdas de la línea sintética citada. Los tejidos fueron recogidos en nitrógeno líquido y conservados a -80°C. El ARN total se purificó a partir de 100 mg de muestra utilizando el reactivo Tri Reagent (Sigma), y se utilizó directamente como molde para la transcripción inversa, mediante el enzima Superscript II (Invitrogen) y hexámeros aleatorios, siguiendo las instrucciones del fabricante. El producto de la retrotranscripción se utilizó para la amplificación por PCR de cuatro fragmentos solapados del ADNc, utilizando cebadores dise-

ñados a partir de la secuencia publicada del mRNA completo del gen *ESR1* porcino (Genbank nº acceso Z37167). Las secuencias de los primers utilizados y los tamaños de los fragmentos amplificados se detallan en el cuadro 1.

Las reacciones de PCR se realizaron en volúmenes de 25 µl, conteniendo buffer estándar 1X, 200mM dNTPs, 2mM MgCl₂, 0,5mM oligos, 0,75U Tth (Biotools) y 2ml ADNc. Las condiciones de amplificación fueron de 94° durante 5min, seguido de 40 ciclos de 94° (30s), Tª anillamiento específica de cada pareja de oligonucleótidos, indicada en el cuadro 1, (30s), 72° (45s) y una extensión final de 72° durante 10 min. Las amplificaciones se realizaron en un termociclador PTC-100 (MJ Research, Warrington, MA). Los fragmentos obtenidos se purificaron con el kit de Amersham PCR purification (Bioscience) y se secuenciaron utilizando el kit Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit en un secuenciador automático ABI-3100 (Applied Biosystems). Se utilizó el paquete de programas DNASTar para la edición y alineamiento de las secuencias obtenidas (aplicaciones Editseq y Megalign).

Genotipado PCR-RFLP

Se realizó el genotipado del polimorfismo PCRRFLP *PvuII*, en 266 muestras de ADN genómico de cerdas de la línea sintética con datos de tamaño de camada, siguiendo el protocolo descrito por SHORT *et al.* (1997). Este polimorfismo descrito por ROTHSCILD *et al.* (1996), es un SNP localizado en región no codificante.

ESR2

La secuenciación del ADNc, la detección de un SNP en la posición 949 en el exón 5

Cuadro 1. Primers utilizados en la secuenciación del ADNc

Fragmento	Secuencia cebadores	Tº anillamiento	Tamaño
Extremo 5'-ex1	5'-TAACCGCGGGCTGTGCTCTTCTTC-3'	65°C	510pb
	5'-CCGCTCGGCTCATTCTCCAGGTAA-3'		
Ex1-ex4	5'-GCCGCAGCTCTCGCCCTTCCT-3'	62°C	501pb
	5'-ACCGCTTCATTCTGCCCTCTCCA-3'		
Ex4-ex6	5'-GGGGGATACGGAAGACC-3'	57°C	551pb
	5'-ACGGAAGCGAGATGATGTAGC-3'		
Ex6-ex8	5'-TGTGTCGAGGGAATGGTGGAG-3'	58°C	540pb
	5'-TCAGATTGTGGTGGGGAAGTT-3'		

del gen *ESR2* y el diseño de los cebadores y protocolo de genotipado mediante PCR-RFLP, aparece detallado en un trabajo previo realizado por nuestro grupo (Muñoz *et al.*, 2003). Se genotiparon para este SNP 267 cerdas de la línea sintética.

Estudio de asociación

Se realizó un análisis de asociación de los polimorfismos descritos en los genes *ESR1* y *ESR2* con caracteres reproductivos (nacidos vivos, NV). Para ello se ha contado con 927 registros de tamaño de camada de 330 cerdas de la línea sintética, 64 de ellas con genotipo desconocido.

Se empleó un modelo animal con repetibilidad en el que se consideraron como efectos fijos el año-época de parto (con 6 niveles) y el genotipo del individuo para el SNP del gen *ESR1* (con 4 niveles: AA, AB, BB o desconocido) o del gen *ESR2* (con 4 niveles: AA, GA, GG o desconocido). La heredabilidad y el efecto permanente estimados a partir de todos los registros fueron respectivamente 0.140 ± 0.029 y 0.007 ± 0.001 . Se realizaron análisis independientes para el primer, segundo y tercer o más partos.

Resultados y discusión

ESR1

Se ha obtenido la secuencia de bases de un total de 1885 pb correspondientes al ADNc del gen *ESR1*. Esta secuencia correspondiente al fragmento comprendido entre las posiciones de la base 3 del extremo 5' y la base 1888 del exón 8, cubre la totalidad del ADNc. Las secuencias obtenidas en las seis hembras de raza Ibérica son idénticas a la publicada (Genbank nº acceso Z37167). En las dos secuencias obtenidas en hembras de la línea sintética se han identificado 5 SNPs. La posición y características de estos SNPs se describen en el cuadro 2.

Ninguno de los 5 SNPs detectados en los individuos de la línea sintética produce un cambio aminoacídico en la proteína codificada.

Estudio preliminar de asociación para los genes *ESR1* y *ESR2*

El efecto de los distintos genotipos de los genes *ESR1* y *ESR2* sobre el número de lechones nacidos vivos, además del número

Cuadro 2. SNPs detectados en la secuenciación del ADNc del gen ESR1 en individuos de diversas líneas

	SNPex3	SNPex5	SNPex7	SNPex8-1	SNPex8-2
Posición Z37165	669	1227	1452	1665	1755
Individuo					
Torbiscal 1	TT	CC	CC	TT	AA
Torbiscal 2	TT	CC	CC	TT	AA
Torbiscal 3	TT	CC	CC	TT	AA
Torbiscal 4	TT	CC	CC	TT	AA
Guadyervas 1	TT	CC	CC	TT	AA
Guadyervas 2	TT	CC	CC	TT	AA
Sintética 1	CT	CC	CC	CC	GG
Sintética 2	TT	CT	CT	CC	GG

de cerdas y número de partos empleados en cada uno de los análisis, se muestran en los cuadros 3 y 4, respectivamente. Se estimó el efecto aditivo del gen como la diferencia entre los homocigotos y el efecto dominante como la diferencia del heterocigoto respecto de la media de los homocigotos.

Como puede observarse, el efecto de los genotipos del gen *ESR1* sobre el número de nacidos vivos, fue muy pequeño. Ni las diferencias ni los efectos fueron significativos en ningún caso, al contrario de lo descrito por

ROTHSCHILD *et al.* (1996) y SHORT *et al.* (1997) en el que el alelo B presentaba un importante efecto favorable sobre el tamaño de camada en las razas Large White, Meishan y líneas sintéticas de ambas.

Sin embargo, nuestros resultados concuerdan con trabajos posteriores realizados tanto en un cruce experimental F_2 entre líneas de las mismas razas Large White y Meishan (GIBSON *et al.*, 2002) como en distintas poblaciones de cerdas Landrace hiperprolíficas (NOGUERA *et al.*,

Cuadro 3. Efecto del gen *ESR1* sobre el tamaño de camada

	Primer parto		Segundo parto		Tercer o más partos		
	N _{cerdas}	NV	N _{cerdas}	NV	N _{cerdas}	N _{partos}	NV
Genotipos							
AA	29	0.00	30	0.00	28	36	0.00
AB	116	-0.44 (0.76)	113	0.63 (0.74)	95	136	0.12 (0.71)
BB	108	-0.01 (0.77)	102	0.72 (0.76)	80	127	0.24 (0.72)
Desconocido	64	-0.02 (0.82)	45	0.36 (0.85)	19	21	0.40 (1.02)
Total	317		290		222	320	
Efecto							
Aditivo		-0.00 (0.39)		0.36 (0.38)			0.12 (0.36)
Dominante		-0.43 (0.50)		0.27 (0.52)			-0.00 (0.48)

Cuadro 4. Efecto del gen *ESR2* sobre el tamaño de camada

	Primer parto		Segundo parto		Tercer o más partos		
	N _{cerdas}	NV	N _{cerdas}	NV	N _{cerdas}	N _{partos}	NV
Genotipos							
AA	15	0.00	15	0.00	13	18	0.00
GA	96	1.47 (1.01)	93	0.63 (1.01)	79	107	-1.41 (0.95)
GG	143	1.00 (1.00)	138	0.96 (1.00)	112	176	-1.31 (0.94)
Desconocido	63	1.24 (1.05)	44	0.56 (1.09)	18	19	-1.14 (1.22)
Total	317		290		222	320	
Efecto							
Aditivo		0.50 (0.50)		0.48 (0.50)			-0.66 (0.47)
Dominante		0.97 (0.62)		0.15 (0.62)			-0.75 (0.58)

2003), en los que no se encontraron efectos significativos.

Con respecto al gen *ESR2*, cabe destacar la disparidad entre el genotipo favorable (GG) para el primer y segundo parto, respecto del genotipo favorable para tercer y siguientes partos (AA). Sin embargo, en ningún caso las diferencias fueron significativas.

La significación de los efectos observados puede estar condicionada por el reducido número de registros disponibles, ya que la frecuencia de aparición de los tres genotipos en la población analizada fue muy diferente, siendo relativamente baja la frecuencia del genotipo AA (5.99%) frente al GA (37.83%) y GG (56.18%). Por lo tanto, sería aconsejable ampliar estos estudios a un mayor número de animales de modo que pueda estar mejor representado el genotipo minoritario AA.

Agradecimientos

Los autores desean mostrar su agradecimiento a Fernando Flamarique por las faci-

lidades dadas en la obtención de muestras biológicas y registros productivos. Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto FIT 01 0000-2001-027.

Bibliografía

GIBSON *et al.*, 2002. *Animal Genetics* 33, 448-450.

KOWALSKI *et al.*, 2002. *Biology of Reproduction* 66, 760-769.

MUÑOZ *et al.*, 2003. ITEA, Vol 24, Tomo II, 429-31.

MUÑOZ *et al.*, 2004. *Animal Genetics* 35(3), 242-4.

NOGUERA *et al.*, 2003. *Livestock Production Science* 82, 53-59.

ROSENFELD *et al.*, 1999. *Biology of Reproduction* 60, 691-697.

ROTHSCHILD *et al.*, 1996. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 201-205.

SHORT *et al.*, 1997. *Journal of Animal Science* 75, 3138-3142.

TREMBLAY *et al.*, 1997. *Molecular Endocrinology* 11 (3), 353-365.

HOMOGENEIZACIÓN GENÉTICA DE UN CARÁCTER. RESULTADOS PRELIMINARES DE UNA SELECCIÓN CANALIZANTE SOBRE EL PESO AL NACIMIENTO DE LOS GAZAPOS

H. Garreau*, G. Bolet*, J. Hurtaud*, C. Larzul*, C. Robert-Granié*, M. Ros**, G. Saleil*, M. SanCristobal**, L. Bodin***

* INRA, Station d'Amélioration Génétique des Animaux, BP 27, 31326 Castanet-Tolosan

** INRA, Laboratoire de Génétique cellulaire, BP 27, 31326 Castanet-Tolosan

*** GRIMAUD FRERES Sélection, La Corbière 49450 Roussay

Introducción

La estabilización de los fenotipos alrededor de una expresión dominante es conocida desde hace tiempo como decisiva para la evolución de las especies. Varios autores han propuesto modelos para explicar esa estabilización natural (RENDEL, 1979; FALCONER, 1989). Numerosos experimentos sobre animales de laboratorios han sido realizados para entender los mecanismos subyacentes de esa canalización natural. Esas experiencias de selección canalizante muestran importantes respuestas a la selección, y por lo tanto demuestran el control genético de esa característica en esas especies.

Por otra parte, modelos heteroscedásticos han sido desarrollados en genética cuantitativa, y la valoración genética ha sido mejorada teniendo en cuenta la heterogeneidad de varianza (SANCRISTOBAL *et al.*, 1993; FOULLEY y QUAAS, 1995; ROBERT *et al.*, 1995a, b). Esos modelos han sido extendidos bajo la hipótesis de que además de los factores ambientales existen también facto-

res genéticos que pueden modificar la variabilidad ambiental (SANCRISTOBAL *et al.*, 1998, 2001; SORENSEN y WAAGEPETERSEN, 2003).

Varios autores han estimado diferentes parámetros genéticos de la variabilidad de un carácter en producción animal, ya sea para tamaño de camada en ovino (SANCRISTOBAL *et al.*, 2000), o para pesos de cerdos al nacimiento (DAMGAARD *et al.*, 2001 ; HUBY *et al.*, 2003). La parte genética aditiva de la varianza ambiental es generalmente baja, pero permite un progreso por selección.

Para estudiar esa posibilidad de selección y medir su eficacia a través del progreso genético que se puede obtener, se ha iniciado una selección divergente para la homogeneidad del peso al nacimiento de los gazapos.

El peso de los gazapos al nacimiento presenta una gran variabilidad dentro de cada camada (BOLET, 1996). Esa heterogeneidad induce a una mortalidad alta, como conse-

cuencia de la desaparición de los gazapos más ligeros (POIGNIER *et al.*, 2000), y de la transmisión al conjunto de la camada por parte de los endebles (POIGNIER *et al.*, 2001). La heterogeneidad al nacimiento perdura hasta el sacrificio y conduce a una heterogeneidad y por lo tanto a un desprecio de los lotes al sacrificio. La homogenización de los gazapos de una camada se puede conseguir por medio de la adopción, pero supone un aumento importante de trabajo (BARGAIN, 2001), al contrario de la solución genética.

Materiales y métodos

Animales

Los datos de 1038 hembras (3237 camadas, 29207 pesos de gazapos) de la estirpe de hembra AGP22 de la casa Grimaud Frère Sélection (GFS) fueron utilizados para estimar los parámetros genéticos de la homogeneidad del peso de los gazapos al nacimiento. De las 193 hembras y 108 machos vivos al inicio del experimento, se escogió las 15 hembras y los 4 machos de valores genéticos más bajos para constituir la generación de

base G0 de la línea heterogénea (hetero) así como las 14 hembras y los 5 machos de valores genéticos más altos para la línea homogénea (homo). Esas hembras fueron introducidas en una granja experimental mientras que los machos seleccionados estuvieron utilizados en inseminación artificial. Tres series de inseminaciones artificiales (cada 6 semanas), proporcionaron 50 partos (26 y 24 respectivamente para las líneas homo y hetero) que fueron obtenidos en un ambiente distinto de los primeros partos que esas hembras tuvieron en el núcleo y que sirvieron para la primera valoración genética. Después del destete consecutivo a la última inseminación, se hizo una nueva valoración y se guardaron 68 hijas de la línea baja y 96 de la línea alta para constituir la generación G1. Esas hembras fueron inseminadas 3 veces con semen de los mismos machos del núcleo (9 machos homo ; 7 machos hetero) para proporcionar los fenotipos de esa generación y producir la generación siguiente. El mismo esquema se aplicó a las generaciones G2 y G3; el cuadro 2 indica el número de animales de esas líneas relativos a cada generación. Los gazapos estuvieron identificados y pesados al nacimiento y al destete.

Cuadro 1. Números de animales y de datos utilizados en cada línea (hetero y homo) para cada generación

Genér.	machos		hembras		partos (fenotipo)		gazapos pesados		candidatas a la selec.†		presión de selección‡	
	het.	hom.	het.	hom.	hetero	homo	hetero	homo	hetero	homo	hetero	homo
Núcleo	108		193		3931		29207		193		/	
G0	4	5	15	14	24	26	268	349	101	144	7.8	7.3
G1	7	9	68	93	127	177	929	1417	89	126	67.3	64.6
G2	5	6	46	61	84	101	651	709	113	110	51.7	48.4
G3	6	6	57	57	/		/		/		50.4	51.8

† número de hembras nacidas de los partos de reposición; candidatas a la selección para la generación siguiente
‡ ratio entre las candidatas de la generación anterior y las hembras en producción.

No hubo homogeneización de las camadas por adopción.

Método de análisis

El carácter medido en el núcleo de selección fue el peso individual de los gazapos vivos al nacimiento y al destete. En ese estudio se consideró ese peso como un carácter de la madre puesto que se quiere reducir la variabilidad de esos pesos intra camada. En primer lugar, los parámetros genéticos de la media de esos caracteres fueron estimados con un modelo clásico

$$P_{ijklmno} = \mu + AM_i + TC_j + DG_k + INP_l + NP_m + MCh_n + MCC_{o(n)} + U_n + \epsilon_{ijklmno}$$

donde

$P_{ijklmno}$ es el peso al nacimiento (o al destete) del gazapo o de la coneja n

AM_i es el efecto debido al año mes i

TC_j es el efecto debido al tamaño j de la camada

DG_k es el efecto de la duración de gestación k

INP_l es el efecto del intervalo entre nacimiento y pesada

NP_m es el número de parto m de la hembra

MCh_n y $MCC_{o(n)}$ son los efectos aleatorios para el medio común de la hembra y de la camada U_n es el efecto aleatorio genético de la hembra (incluyendo la matriz de parentesco)

$\hat{\epsilon}_{ijklmno}$ es el efecto aleatorio residual

En segundo lugar, hemos estimado los parámetros genéticos de una función de la residual del primer modelo considerando a su vez efectos ambientales y genéticos.

$$\ln \hat{\epsilon}_{ijklmn}^2 = \eta + AM_i + TC_j + DG_k + INP_l + NP_m + MCh_n + MCC_{o(n)} + V_n + \epsilon_{ijklmn}^*$$

donde

$\ln \hat{\epsilon}_{ijklmn}^2$ es el logaritmo del valor residual del modelo anterior al cuadrado

AM_i , TC_j , DG_k , INP_l , NP_m , MCh_n y $MCC_{o(n)}$ son efectos similares a los del modelo sobre los pesos

V_n es el efecto aleatorio genético de la hembra (incluyendo la matriz de parentesco)

En estos dos análisis se utilizó el método REML aplicado a un modelo animal, mediante el programa VCE (NEUMAIER et GROENEVELD, 1998). Esos parámetros genéticos sirvieron para calcular para cada animal del núcleo dos valores genéticos BLUP U y V que contribuyen a la media y al logaritmo de la varianza ambiental según el modelo descrito por SANCRISTOBAL *et al.* (1998). Esos cálculos se hicieron con PEST (GROENEVELD et KOVAC, 1990).

A cada generación, se seleccionó las mejores y las peores hembras dentro de cada línea a partir de una valoración genética (programa PEST) de los pesos de gazapos nacidos en la granja experimental. Los machos estaban seleccionados en el núcleo después de una indexación actualizada a cada generación.

Los resultados preliminares conciernen las dos primeras generaciones sobre las cuales se han medido; el número de gazapos nacidos total (NT), vivos (NV), y destetados (ND), la tasa de mortalidad al nacimiento (MN), de mortalidad nacimiento-destete (MD), el peso individual de los gazapos al nacimiento (PN) y al destete (PD) así como la desviación estándar del peso al nacimiento (DTN) y al destete (DTD) intra camada. Se ha analizado también el logaritmo del cuadrado de los resi-

duos del peso al nacimiento (L_R) que sirvió como criterio de selección. Los análisis se realizaron con el programa SAS, Proc GLM fue utilizado para NT, NV, ND, DTN, DTD, mientras proc MIXED fue aplicado

para PN, PD y L_R. Proc GENMOD fue aplicado para MN y MD para tener en cuenta la no normalidad de esas variables. El cuadro 2 indica los efectos incluidos en los modelos para cada carácter.

Cuadro 2. Procedimiento SAS y factores de variación utilizados en los modelos para cada carácter

Carácter	GLM					GENMOD		MIXED		
	NT	NV	ND	DTN	DTD	MN	MD	L_R	PN	PD
Efectos fijos										
Generación	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Línea intra generación	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
lote intra generación								X	X	X
número de parto	X	X	X	X		X	X		X	X
número de nacidos total				X				X	X	
número de nacidos vivos					X					
número de destetados										X
Efectos aleatorios										
Hembra intra línea-generación								X	X	X

Resultados y discusión

El cuadro 3 indica los estadísticos del peso al nacimiento de los gazapos de la estirpe de hembra AGP22 de la casa Grimaud Frère Sélection, y el cuadro 4 los parámetros genéticos del peso individual de los gazapos y de la variabilidad intra camada de esos pesos.

Es la primera vez que se publican parámetros genéticos para la variabilidad del

peso al nacimiento de los gazapos. La parte genética aditiva de la varianza ambiental es baja (0.06). Sin embargo debido a la no linealidad del modelo, el ratio no tiene las propiedades de un coeficiente de regresión y por lo tanto no puede considerarse como una verdadera heredabilidad. El ratio es inferior a las heredabilidades publicadas por HÖGGERG *et al.* (1999), DAMGAARD *et al.* (2001) y HUBY *et al.* (2003) en porcino, que varían de 0.6 a 0.10, pero esos autores utilizan otra mode-

Cuadro 3. Estadísticos del peso al nacimiento en el estirpe AGP22

Número	Medio	desviación estándar	Mínimo	Máximo	Coefficiente de variación
29207	58 g	13 g	16 g	116 g	0.22

Cuadro 4. Componentes de la varianza y porcentaje de la varianza total del peso individual de los gazapos y de la variabilidad de esos pesos

	Peso individual		Variabilidad de los pesos	
	Varianzas	Ratio	Varianzas	Ratio
Medio común camada	30.7	0.23	0.16	0.03
Medio común hembra	7.7	0.06	0.01	0.002
Residual:	88.8	0.65	4.83	0.95
Genética:	$\sigma_u = 8.5$	$\eta_u = 0.06$	$\sigma_v = 0.06$	0.012

lización y analizan directamente la desviación estándar de los pesos individuales. Por otra parte, no tienen en cuenta los factores de variación ambientales y genéticos que actúan sobre el peso individual al nacimiento. BODIN *et al.* (2002), discuten las consecuencias de esa metodología. La heredabilidad del peso individual del gaza- po al nacimiento considerado como un carácter de su madre es baja ($h_u=0.06$) y obviamente inferior a la heredabilidad del peso medio de la camada encontrado en la bibliografía (promedio de 0.4 ; RYDHMER, 2000), y al valor de la heredabilidad mater-

nal en un modelo animal con efectos direc- tos y maternos (RYDHMER, 2000).

La divergencia simétrica generada para construir la primera generación de las dos líneas correspondió a una presión de selec- ción alta (~7.5%) y a una intensidad de 3.77 desviaciones estándares del carácter. Para que los índices tengan suficientemente pre- cisión y no alargar el manejo de cada gene- ración, las candidatas de las generaciones siguientes procedían solamente de la terce- ra inseminación de su madre, lo que redujo mucho la presión de selección en las siguientes generaciones (cuadro 1).

Cuadro 5. Parámetros fenotípicos de los datos de las dos primeras generaciones de selección según cada línea

	N datos	-P	Efecto Genér.	Efecto línea	G1		G2	
					B Hetero	A Homo	B Hetero	A Homo
Número nacidos (NT)	515	3.28	NS	*	9.09	9.05	9.60	8.40
Número nacidos vivos (NV)	515	3.49	*	*	7.33	8.15	8.84	7.96
Número destetado (ND)	487	3.20	NS	NS	6.23	6.82	7.51	7.31
Mortalidad al naci. (MN)	515	—	***	***	19.36	9.94	7.92	5.24
Mortalidad al destete (MD)	487	—	NS	NS	15.01	16.31	15.04	8.17
Peso individual naci. (PN) (g)	3931	13.2	*	NS	62.1	60.0	65.2	63.6
Peso destete (PD) (g)	3154	181	**	NS	624	632	813	800
Desvi. estándar naci. (DTN)	462	3.13	NS	**	7.31	6.63	8.07	6.93
Desvi. estand. destete (DTD)	434	37.8	*	NS	71.6	67.3	84.3	77.2

El logaritmo del cuadrado de los residuos que sirvió de criterio de selección ha sido obviamente más bajo en la línea homogénea a la primera generación (2.58 vs 2.69) como a la segunda (2.87 vs 3.07). Pero seguramente debido a su distribución, los tests de análisis de varianza no son significativos.

La diferencia de desviación estándar del peso al nacimiento entre las dos líneas al inicio de la selección (G0) era de 0.6g o sea 10% de ese carácter. Debido a la selección esa diferencia se ha transmitido a la generación G1 (0.68g ; 10% de la media) y a la generación G2 (1.14g) lo que representa 15.2% de la media del carácter (cuadro 5). Globalmente esa diferencia entre líneas es significativa ($P < 1\%$) y deja pensar que el coeficiente de heredabilidad realizada que será calculado al final de la tercera generación será relativamente alto. El cambio significativo de la variabilidad del peso al nacimiento ha conducido también a un cambio de variabilidad al destete ($\sigma = 6.93\text{g}$ vs 8.07g) pero que sin embargo no alcanza todavía la significación.

Los pesos individuales de los gazapos de la línea homogénea al nacimiento son inferiores de 3 gramos a los de la línea heterogénea. Por supuesto, esa diferencia no es significativa, pero deja pensar que puede existir una correlación ligeramente negativa entre la media y la variabilidad del carácter. Al destete, la diferencia de pesos es variable según las generaciones y no significativa. Así las dos primeras generaciones de selección sobre la variabilidad no afectaron la media del carácter al nacimiento o al destete.

La respuesta direccional indirecta más correlacionada a la respuesta directa sobre la variabilidad corresponde a la mortalidad al nacimiento que es significativamente ($P < 1\%$) más baja en la línea homogénea (9.94 % vs. 19.36 % en G1 y 5.24 % vs.

7.92% en G2). Ese resultado confirma la correlación positiva entre la heterogeneidad de los pesos individuales y la mortalidad observada al nacimiento en cerdo por varios autores. DAMGAARD *et al.* (2001) indican que la correlación genética es también positiva. Esa disminución de la mortalidad en la línea homogénea se traduce en la segunda generación por una baja de la mortalidad al destete (8.17% vs 15.4%) aunque la diferencia no es todavía significativa. Así la selección para homogeneizar el peso de los gazapos al nacimiento puede resultar en una mejora de su viabilidad al nacimiento y luego al destete.

La prolificidad (gazapos totales) es significativamente ($P < 5\%$) más baja en la línea homogénea, pero como la mortalidad al nacimiento es significativamente más baja en esa línea, la diferencia observada en el número de gazapos nacidos vivos es contradictoria según las generaciones. La prolificidad observada en esas generaciones que es más baja que la normal, se puede explicar por problemas sanitarios y por los calores muy fuertes que ocurrieron durante el transcurso de la selección. Ese efecto ambiental ha podido reducir el beneficio de la reducción de variabilidad de los pesos sobre la viabilidad al nacimiento y sobre todo al destete.

Conclusión

Con dos generaciones de selección se ha podido reducir la variabilidad del peso al nacimiento de 15% de su valor medio. Esa selección por la variabilidad está basada en un modelo que considera la existencia de dos grupos de genes que controlan la media y la variabilidad del carácter. Los progresos obtenidos sobre la desviación estándar y la

media del peso de los gazapos intra camada indican que con esa metodología se puede seleccionar la variabilidad de un carácter de manera independiente de su media. Sin embargo existen respuestas direccionales correlacionadas a esa selección canalizante. La más importante es favorable puesto que disminuye la mortalidad de los gazapos. Eso corresponde a una relación conocida y usada por los criadores que practican la adopción. La relación entre variabilidad de los pesos al nacimiento y tamaño de la camada es menos importante pero tendrá que ser analizada detalladamente si se confirma.

Agradecimientos

Se agradece al equipo de la finca experimental de Auzeville por el suministro y la recogida de los datos.

Bibliografía

BARGAIN V., 2001. *Cuniculture*, 159, 106-107.

BODIN L., SAN CRISTOBAL M., ROBERT-GRANTÉ C., LARZUL C., ALLAIN D., ROCHAMBEAU DE H., GARREAU H., ROS M., ELSÉN J.M., 2002. *7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, August 19-23, 2002, Montpellier.

BOLET G., ESPARBIÉ J., FALIÉRES J., 1996. *Ann. Zootech.*, 45, 185-200.

DAMGAARD L.H., RYDHMER L., LOVENDAHL P., GRANDINSON K., 2001. *52nd Annual Meeting of the EAAP*. Budapest, Hungary, August 2001, Commission on animal Genetics.

FALCONER D.S., 1989. *Am Natur* 86, 293-298.

FOULLEY J.L., QUAAAS R.L., 1995. *Genet. Sel. Evol.* 27, 211-228.

GROENEVELD E., KOVAC M., 1990. *J. Dairy Sci.*, 73, 513-531.

HÖGBERG A., RYDHMER L., 2000. *Acta Agric. Scand., Sect. A, Animal Sci.* 50, 300-303.

HUBY M., GOGUÉ J., MAIGNEL L., BIDANEL J.P., 2003. *Journées Recherche Porcine*, 35, 293-300.

NEUMAIER A., GROENEVELD E., 1998. *Genet. Sel. Evol.* 30, 3-26.

POIGNIER J., SZENDRŐ ZS., LEVAI A., RADNAI I., BIRO-NEMETH E., 2000. *World Rabbit Science*, 2000, 8, 1.

RENDEL J.M., 1979. In: *Quantitative genetic variation*. Academic press, Inc., J.N. Thompson Jr. and J.M. Thoday ed. 139-156.

ROBERT C., FOULLEY J.L., DUCROCQ V., 1995a. *Genet. Sel. Evol.* 27, 111-123.

ROBERT C., FOULLEY J.L., DUCROCQ V., 1995b. *Genet. Sel. Evol.* 27, 125-134.

RYDHMER L., 2000. *Livestock Production Science*, 66 : 1-12.

SAN CRISTOBAL-GAUDY M., ELSÉN J.M., BODIN L., CHEVALET C., 1998. *Genet. Sel. Evol.* 30, 423-451.

SANCRISTOBAL-GAUDY M., BODIN L., ELSÉN J.M., CHEVALET C., 2001. *Genet. Sel. Evol.* 33:249-271.

SANCRISTOBAL M., FOULLEY J.L., MANFREDI E., 1993. *Genet. Sel. Evol.* 25, 3-30.

SORENSEN D., WAAGPETERSEN R., 2003. *Genet. Res.* 82:207-222.

CONSECUENCIAS DE LA SELECCIÓN PARA RESISTENCIA GENÉTICA A SCRAPIE SOBRE LA ESTRUCTURA DEL GENOMA EN DESEQUILIBRIO GAMÉTICO CON EL GEN PRNP

J. Altarriba*, C. Moreno*, C. Díaz**, M. Serrano**

* Unidad de Genética cuantitativa y Mejora animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza.

** Departamento de Mejora Genética Animal. INIA. Crta. de la Coruña, Km. 7. 28040 Madrid.

Correo electrónico: altarrib@unizar.es

RESUMEN

Se estiman, mediante procedimientos de simulación, las consecuencias de la selección para resistencia genética a scrapie sobre el genoma en desequilibrio gamético con el gen PRNP, evaluándose separadamente los cambios medios esperados en el cromosoma 13 y en el resto. Se observa que los efectos indirectos inducidos por la selección a favor del alelo ARR pueden ser importantes a lo largo de todo el genoma, especialmente en el entorno del locus PRNP, y mayor cuanto más rápida y radical sea la selección ejercida y más baja la frecuencia inicial de ARR. Estos resultados permiten recomendar selecciones de baja intensidad en el intento de favorecer un presunto efecto terapéutico de ARR con la mínima reorganización del genoma. En caso contrario, deben esperarse cambios importantes en la estructura genética de las poblaciones en caracteres de todo tipo con dirección y magnitud impredecibles.

Palabras clave: Scrapie, selección, efecto autostop, gen PRNP

SUMMARY

CONSEQUENCES OF THE SELECTION FOR GENETIC RESISTANCE TO THE SCRAPIE ON THE GENOME IN GAMETIC DISEQUILIBRIUM WITH THE PRNP GENE

The consequences of the selection for genetic resistance to Scrapie, on the portion of the genome that is in gametic disequilibrium with the PRNP gene, are estimated by means of simulation procedures, with separated evaluations of the expected average changes in the chromosome 13 and in the rest. It is observed that the indirect effects induced by the selection favourable to ARR allele can be important along the whole genome, especially around the PRNP locus, and larger the quicker and more radical the selection is and the lower the initial frequency of ARR is as well. These results allow to advise selections with low intensity for favouring a presumptive therapeutic effect of ARR with the minimum genomic reorganization. Otherwise, important changes should be expected in the genetic structure of the populations in all type of traits with unpredicted direction and magnitude.

Key words: Scrapie, selection, hitchhiking effect, PRNP gene

Introducción

En la especie ovina, el genotipo de los animales para el gen *Prnp* que codifica para la proteína priónica es en gran medida responsable de la susceptibilidad/resistencia a la encefalopatía espongiforme ovina conocida como "scrapie" (BELT *et al.*, 1995; HUNTER *et al.*, 1997). Los polimorfismos detectados en los codones 136, 154 y 171 de dicho gen presentan una relación directa con los distintos grados de riesgo de contraer la enfermedad. El alelo ARR está asociado a resistencia a scrapie en su forma natural y el alelo VRQ a susceptibilidad (HUNTER *et al.*, 1996; ELSEN *et al.*, 1999). Sin embargo, existen alelos tales como AHQ, ARQ y ARH que presentan un comportamiento distinto en función de la raza (HUNTER, 1997; THORGEIRSDOTTIR *et al.*, 1999). En general se admite que los animales con genotipo ARR/ARR son más resistentes a padecer la enfermedad, mientras que los VRQ/VRQ son los más sensibles. Con el fin de facilitar las decisiones de selección se ha establecido una clasificación en cinco niveles que relaciona el genotipo y el riesgo de contraer scrapie, donde R1 indica muy bajo riesgo tanto para el animal como para su descendencia, mientras que R5 indica un alto riesgo (DAWSON *et al.*, 1998).

En la Decisión 498 (DOUE, 2003), tomando como referencia el conocimiento actual de las bases genéticas de la enfermedad, se fijan los requisitos mínimos para el establecimiento de programas de cría de ovinos resistentes a las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), y está en preparación legislación española que establezca las bases de regulación para la aplicación y desarrollo de un Programa Nacional de selección genética para la resistencia a las EETs en ovino (MAPyA,

2003). Esta legislación se fundamenta en la hipótesis de que la base genética de la EET ovina es similar a la bovina (BSE) y que, de alguna manera, si se obtienen individuos resistentes a scrapie se evitará la potencial transmisión al hombre de una nueva forma de BSE adquirida por los ovinos a través del consumo de harinas de carne infectadas. Para ello se preconiza la selección a favor del alelo ARR hasta alcanzar su fijación.

El objetivo del presente estudio es realizar una primera estimación de los cambios esperados en la estructura genética del genoma ovino en desequilibrio de ligamiento (gamético) con el gen *Prnp*, como consecuencia del efecto de arrastre ejercido por una selección favorable al alelo ARR en los programas de mejora de las poblaciones ovinas.

Metodología

Se realiza una simulación genética asumiendo que el gen *Prnp* posee sólo dos alelos funcionales, ARR y NO_ARR (incluyendo éste a AHQ, ARH, ARQ, VRQ, etc.), con frecuencias alélicas iniciales de $p_0 = 0,2$ y $q_0 = 0,8$, como modelo de numerosas razas ovinas autóctonas españolas, y de $p_0 = 0,4$ y $q_0 = 0,6$, como ejemplificación de una situación bien distinta correspondiente a bastantes razas foráneas. A su vez, también se asume que el resto del genoma estudiado se encuentra en desequilibrio gamético a distancias de recombinación genética (c) de hasta 0,5 (FALCONER y MACKAY, 1996), caracterizado por loci dialélicos con frecuencias r_0 y $1 - r_0$. Finalmente, se asume que la magnitud del desequilibrio inicial, antes de la selección, es el 50% del desequilibrio máximo posible con las frecuencias génicas iniciales.

Se estudian dos estrategias de selección diferenciadas por las decisiones que afectan a los individuos heterocigotos ARR/NO_ARR . En ambas se ejerce una presión de selección s contra el homocigoto NO_ARR/NO_ARR y de s ó $s/2$ contra el heterocigoto, hasta alcanzar una frecuencia de $p = 0,95$ para el alelo ARR en ambos casos. No se ejerce selección directa sobre otros loci y no concurren procesos dispersivos que puedan afectar a las frecuencias génicas de la población.

Se estudian los cambios, expresados en porcentaje, que la selección sobre el gen $Prnp$ produce en las frecuencias génicas de los loci neutrales a la selección, en el rango de $r_0 = 0,1 - 0,9$, aplicando cuatro intensidades de selección: $s = 1,00$ (ultrarápida), $s = 0,50$, $s = 0,25$ y $s = 0,10$ (lenta).

Resultados y discusión

En la figura 1 se muestran los valores máximos posibles del desequilibrio gamético (D_{max}) con las frecuencias génicas asumidas en los distintos pares de loci. El gen $Prnp$ está representado por los valores del alelo $p(ARR)_0 = 0,20$ y $0,40$, mientras que los otros genes lo están en la totalidad del espacio paramétrico ($r_0 = 0 - 1$). Puede observarse que el valor absoluto de D_{max} es mínimo en los extremos de la distribución y alcanza valores máximos en la parte central, con algunos matices. El signo del desequilibrio refleja únicamente las distintas situaciones de atracción/repulsión entre los alelos considerados. Pues bien, los desequilibrios iniciales asumidos en cada caso simulado son el 50% de los reflejados en esta figura.

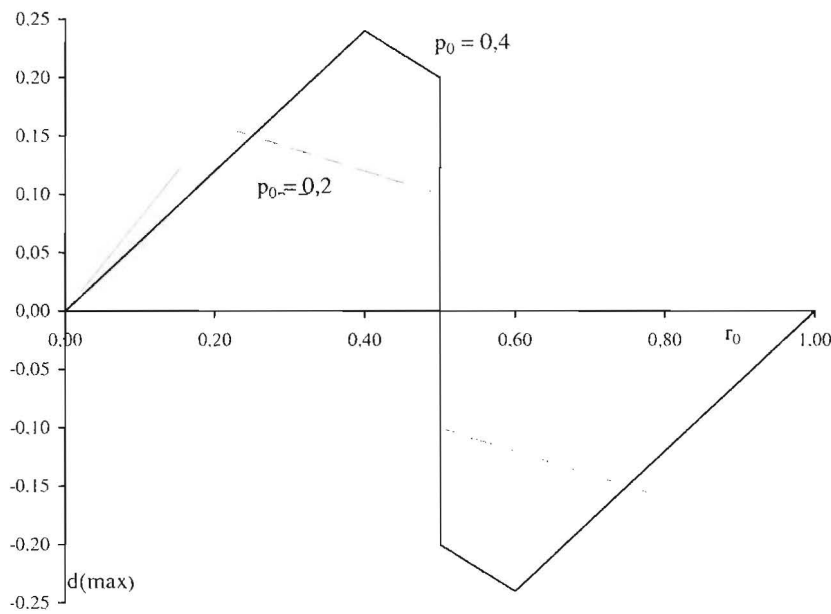


Figura 1. Desequilibrio máximo entre el locus $Prnp$ con $p(ARR)_0 = 0,20 - 0,40$ y el resto del genoma, en función de las frecuencias génicas r_0 .
Figure 1. Maximum disequilibrium among the $Prnp$ locus with $p(ARR)_0 = 0.20 - 0.40$ and the rest of the genome, in function of the gene frequencies r_0 .

En la figura 2 se muestra el cambio de las frecuencias génicas ($\% \Delta r$) en los loci con frecuencias génicas iniciales de $r_0 = 0,5$ en los genes neutrales, y $p(\text{ARR})_0 = 0,2$, en el locus *Prnp* sometido a selección, en función del coeficiente de recombinación y de las cuatro intensidades de selección. Tales distribuciones siguen un patrón general en las situaciones estudiadas con distintas frecuencias génicas. Efectivamente, el cambio generado en la frecuencia génica r , como consecuencia de la selección a favor del alelo ARR, es mayor cuanto mayor sea la intensidad de selección. A su vez, este cambio es más intenso en los loci más cercanos al locus *Prnp*, pero constatándose cambios importantes incluso en genes independientes (con $c = 0,5$), situados en cromosomas distintos. Se observa que la magnitud del cambio decrece a medida que nos alejamos del locus *Prnp* sobre el cual se realiza la selección, siendo

este efecto más claro con bajas intensidades de selección. Cuando $s = 1$ las frecuencias arrastradas son relativamente constantes en el barrido de los coeficientes de recombinación. En cualquier caso se esperan consecuencias más importantes sobre una mayor porción del genoma cuanto más intensa es la selección ejercida. Parece lógico pensar que cuantas más generaciones sean necesarias para provocar el cambio en la frecuencia de ARR (hasta $p = 0,95$), mayores oportunidades tiene la recombinación genética para mantener una mayor proporción de la variabilidad inicial de los loci ligados.

En la figura 3 se muestra el cambio de las frecuencias alélicas r , en idéntica situación a contemplada en la figura anterior, pero en función de la distancia de mapa. Para cada intensidad de selección se observa el cambio en las frecuencias génicas de los loci del cro-

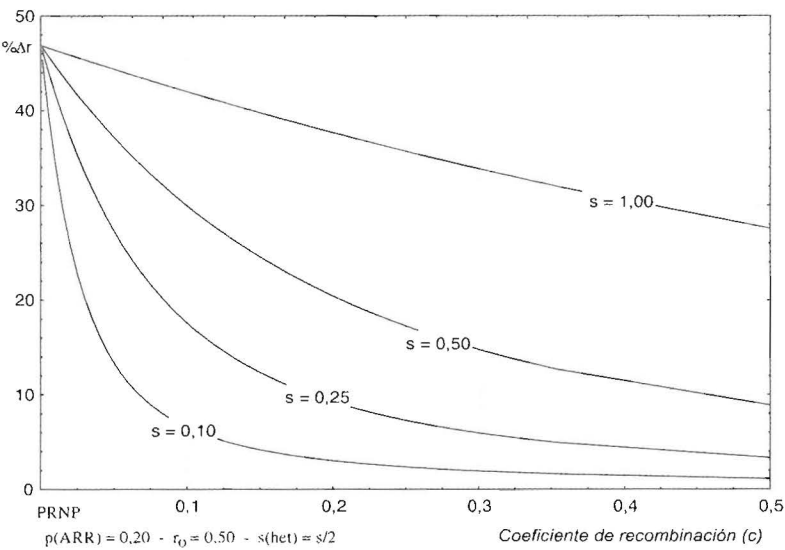


Figura 2. Cambio ($\% \Delta r$) de las frecuencias génicas de loci ligados a *Prnp* según el coeficiente de recombinación entre ambos.
 Figure 2. Change ($\% \Delta r$) of the gene frequencies of linked loci to *Prnp* according the recombination frequency.

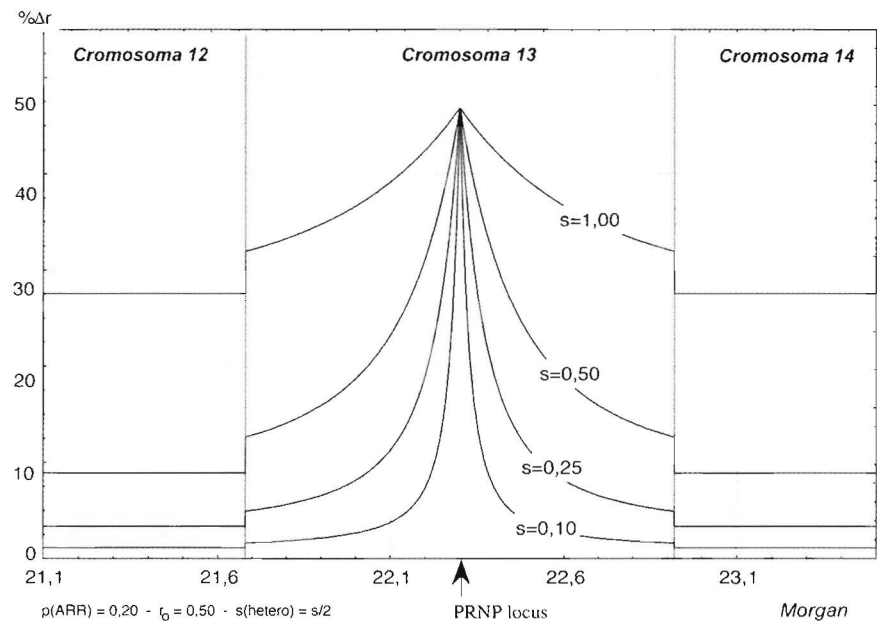


Figura 3. Cambio ($\% \Delta r$) de las frecuencias génicas de loci ligados a Prnp según la distancia de mapa entre ambos.

Figure 3. Change ($\% \Delta r$) of the gene frequencies of linked loci to Prnp according the map distance.

mosoma 13 (128,3 cM), en el cual se sitúa el locus PRNP (CASTIGLIONI *et al.*, 1998), y en el resto de los cromosomas, asumiendo una función de mapa de Haldane. A partir de estas distribuciones se ha estimado el cambio medio de las frecuencias génicas arrastradas en el cromosoma 13 y en el resto de los cromosomas (3628,6 cM en los 27 pares).

En las figuras 4 y 5 se muestran los cambios medios generados con $p(ARR)_0 = 0,2$, con una aptitud de los heterocigotos con la mitad o la totalidad del coeficiente de selección (s), respectivamente. Se observa que la magnitud de los cambios esperados en las frecuencias génicas son importantes con elevadas intensidades de selección, especialmente con frecuencias génicas iniciales extremas. En consecuencia, pueden esperarse mayores cambios en loci o caracteres

adaptativos y/o de producción, que han alcanzado tal estructura como consecuencia de la selección natural o artificial, que en loci con frecuencias génicas intermedias, que pueden corresponderse mayoritariamente con genes neutrales a la selección previa ejercida a lo largo del tiempo, en los cuales el cambio de la frecuencia génica lleva parejo una disminución de la variabilidad genética entendida como una disminución de la heterocigosidad.

Las figuras 6 y 7 muestran los cambios medios generados cuando la frecuencia inicial del alelo ARR es 0,4, con una evolución semejante a la observada con frecuencias más bajas (0,2). Sin embargo, las magnitudes relativas del cambio son de menor entidad que en el caso anterior, dado que el fenómeno de arrastre se produce durante

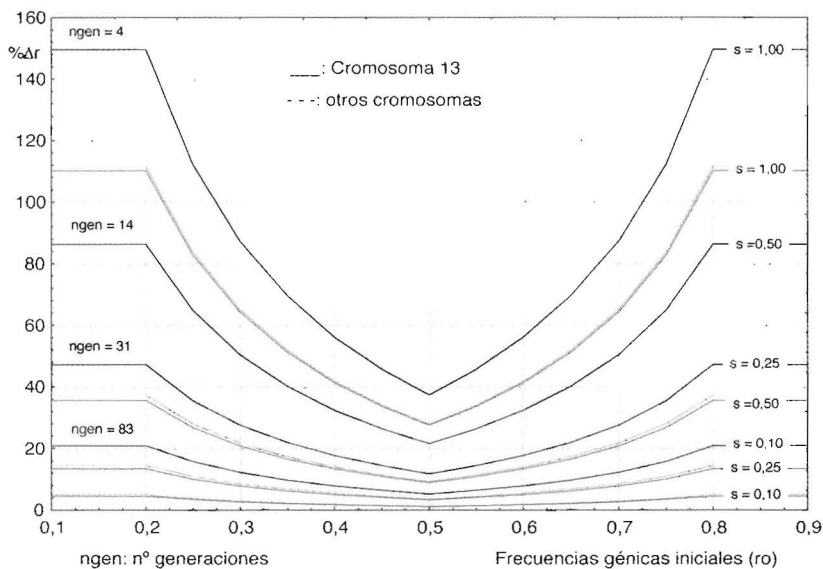


Figura 4. $\% \Delta r$ medio en Cr. 13 y el resto de los cromosomas según la frecuencia génica inicial, con $p_0 = 0,2$ y $s(het) = s/2$.

Figure 4. Average $\% \Delta r$ in chromosome 13 and in the rest, according the initial gene frequency, $p_0 = 0,2$ and $s(het) = s/2$.

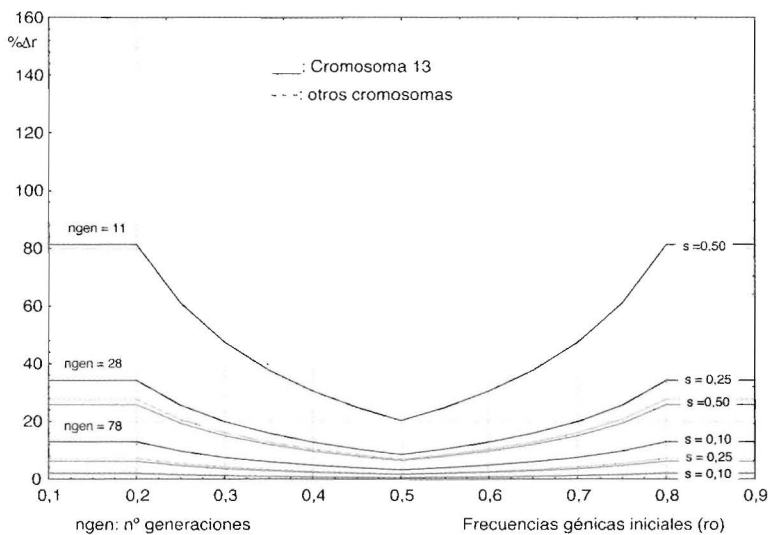


Figura 5. $\% \Delta r$ medio en Cr. 13 y el resto de los cromosomas según la frecuencia génica inicial, con $p_0 = 0,2$ y $s(het) = s$.

Figure 5. Average $\% \Delta r$ in chromosome 13 and in the rest, according the initial gene frequency, $p_0 = 0,2$ and $s(het) = s$.

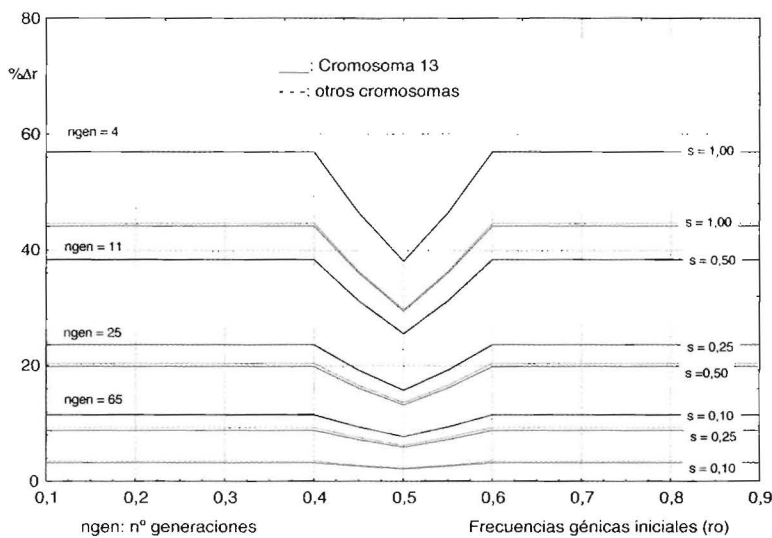


Figura 6. $\% \Delta r$ medio en Cr. 13 y el resto de los cromosomas según la frecuencia génica inicial, con $p_0 = 0,4$ y $s(het) = s/2$.
Figure 6. Average $\% \Delta r$ in chromosome 13 and in the rest, according the initial gene frequency, $p_0 = 0,4$ and $s(het) = s/2$.

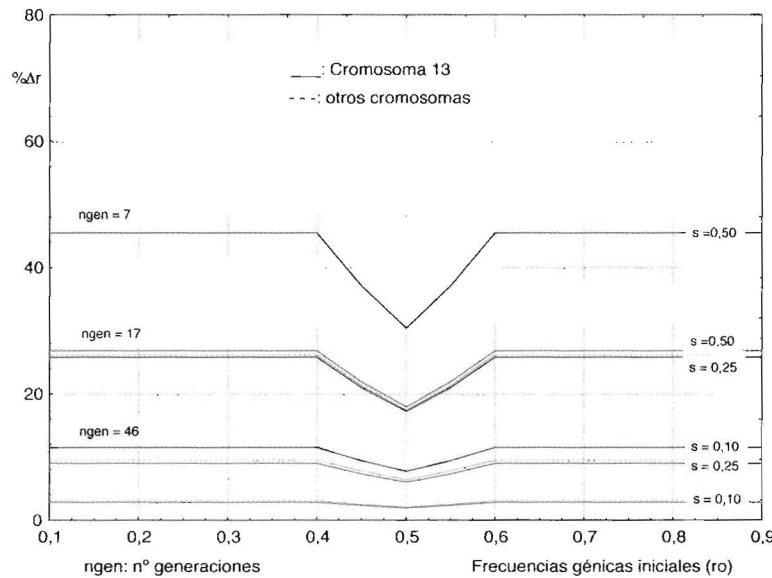


Figura 7. $\% \Delta r$ medio en Cr. 13 y el resto de los cromosomas según la frecuencia génica inicial, con $p_0 = 0,4$ y $s(het) = s$.
Figure 7. Average $\% \Delta r$ in chromosome 13 and in the rest, according the initial gene frequency, $p_0 = 0,4$ and $s(het) = s$

menos tiempo al ser las frecuencias iniciales y finales simuladas más próximas.

En consecuencia, los cambios producidos en los loci ligados al locus PRNP pueden ser importantes en todo el genoma, especialmente en el cromosoma 13. Tales cambios son mayores cuanto más intensa sea la selección ejercida a favor del alelo ARR y en general cuanto menor sea la frecuencia de dicho alelo.

Este hecho, que los cambios sean más importantes en escenarios con bajas frecuencias del alelo ARR, es especialmente interesante toda vez que la mayor parte de las poblaciones ovinas españolas presentan frecuencias inferiores a 0,2 (SANZ-PARRA *et al.*, 2000; ACÍN *et al.*, 2003; PONZ *et al.*, 2003). En este sentido, los borradores de Reales Decretos en los cuales se establecen las medidas de control de las EET parecen poco sensatos, si previamente no se evalúa la incidencia de scrapie, se sigue sin conocer los modelos de resistencia/susceptibilidad en las razas autóctonas españolas y sin haber estudiado las posibles estrategias de control y sus consecuencias sobre las poblaciones ovinas españolas.

En todo caso, si se decide seguir con los planes de selección previstos, deberían preconizarse selecciones de baja intensidad en el intento de favorecer la resistencia asociada al alelo ARR con la mínima reorganización del genoma, aunque esto pueda exigir bastante tiempo. En caso contrario, deben esperarse cambios importantes en la estructura genética de las poblaciones en caracteres de todo tipo, en una dirección y magnitud impredecible. A los cambios aquí descritos, es necesario añadir los que pueden producirse como consecuencia de la deriva genética, cuyos efectos han sido excluidos en las simulaciones, y que resultan inevitables en el orden práctico.

Si lo que se pretende es evitar, como se dice, una nueva forma de BSE en ovinos potencialmente transmisible al hombre, hay dos hechos que deben destacarse: a) no existen evidencias experimentales de contagio espontáneo, por lo que estamos tratando de un riesgo teórico, como se reconoce en la decisión 498 (DOUE, 2003), y b) en cambio, si se apuesta por la eliminación a cualquier precio de tal posibilidad, existen evidencias experimentales de que animales con genotipo ARR/ARR inoculados intracerebralmente con priones provenientes de vacas enfermas contraen la enfermedad (HOUSTON *et al.*, 2003).

Conclusión

En este trabajo se pone de manifiesto que dedicar tan formidable esfuerzo de selección para elevar la frecuencia alélica de ARR, como está previsto en la normativa comunitaria y española, no parece una buena solución para resolver los problemas asociados a scrapie en las razas autóctonas, cuando además, al parecer, se desea seguir promoviendo estrategias para conservar el acervo genético de tales poblaciones en sistemas sostenibles. En cambio, parece más adecuado ir pensando en medidas de control y erradicación del agente infeccioso, directamente o evitando su difusión a través de las harinas de carne, antes que seguir cargando al sector productor con esta especie de culpabilidad innecesaria.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto EET2001-4891-C03-01.

Bibliografía

- ACÍN C., MARTÍN-BURRIEL I., LYAHYAI J., MONLEÓN E., RODELLAR C., BADIOLA J.J., ZARAGOZA P., 2003. Riesgo genético del ovino aragonés a la enfermedad de scrapie. *X Jornadas sobre producción animal. ITEA 24* (Extra-II), 474-476.
- BELT B.G.M., MUILEMAN I.H., SCHREUDER B.E.C., BOS-DE RUIJTER J., GIELKENS A.L.K., SMITS M.A., 1995. Identification of five allelic variants of the sheep PrP gene and their association with natural scrapie. *Journal of General Virology* 76, 509-517.
- CASIGLIONI B., COMINCINI S., DRISALDI B., MOTTA T., FERRETTI L., 1998. Comparative mapping of the prion gene (PRNP) locus in cattle, sheep and human with PCR-generated probes. *Mammalian Genome* 9, 853-855.
- DAWSON M., HOINVILLE L.J., HOSIE B.D., HUNTER N., 1998. Guidance on the use of PrP genotyping as an aid the control of clinical scrapie. *The Veterinary Record* 142, 623-625.
- DOUE, 2003. Decisión 2003/498 de 13 de febrero.
- ELSEN J.M., AMIGUES Y., SCHELCHER F., DUCROCQ V., ANDREOLETTI O., EYCHENNE F., TIEN KHANG J.V., POIVEY J.P., LANTIER F., LAPLANCHE J.L., 1999. Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie: details analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. *Arch. Virol* 144, 431-445.
- FALCONER D., MACKAY T., 1996. Introduction to Quantitative Genetics. Longman, England.
- HOUSTON F., GOLDMANN W., CHONG A., JEFFREY M., GONZÁLEZ L., FOSTER J., PARNHAM D., HUNTER N., 2003. BSE in sheep bred for resistance to infection. *Nature* 423, 498.
- HUNTER N., 1997. Molecular biology and genetics of scrapie in sheep. In: Piper L, Ruvinsky A (eds). *The genetic of sheep*. CAB International, Wallingford, pp. 225-240.
- HUNTER N., FOSTER J.D., GOLDMAN W., STEAR M.J., HOPE J., BOSTOCK C., 1996. Natural scrapie in close flock of Cheviot sheep occurs in specific PrP genotypes. *Arch. Virol.* 141, 809-824.
- HUNTER N., MOORE L., HOSIE B.D., DINGWALL W.S., GREIG A., 1997. Association between natural scrapie and PrP genotype in a flock of Suffolk sheep in Scotland. *The Veterinary Record* 140, 59-63.
- MAPyA (2003). Proyecto de Real Decreto por el que se establecen las bases de regulación del programa Nacional de selección genética para la resistencia a las encefalopatías espongiformes transmisibles (EETs) en ovino.
- PONZ R., MONTEAGUDO L.V., ARRUGA M.V., 2003. Estimación de frecuencias genotípicas del gen PrP en la raza ovina Rasa aragonesa. Identificación de animales con alelos sensibles a scrapie. *Archivos de Zootecnia* 52, 85-88.
- SANZ-PARRA A., OPORTO B., JUSTE R.A., BELTRÁN I., GÓMEZ N., GARRIDO J., ARRESE F., 2000. Aplicación de las técnicas de tipado genético para la tembladera o scrapie en el programa de selección y mejora genética de la raza Latxa. *XXV Jornadas Científicas y IV Internacionales de la SEOE*, 259-263.
- THORGEIRSDOTTIR S., SIGURDARSON S., THORISSON H.M., GEORGSSON G., PALSDOTTIR A., 1999. PrP gene polymorphism and natural scrapie in Icelandic sheep. *Journal of General Virology* 80, 2527-2534.

CONTROL DE LA CONSANGUINIDAD EN PROGRAMAS DE SELECCIÓN EN ACUICULTURA

J. Fernández, L. Vega, M.A. Toro

Departamento de Mejora Genética Animal
INIA, Carretera La Coruña Km. 7, 28040 Madrid
jmj@inia.es • toro@inia.es

Introducción

La respuesta a la selección artificial depende, entre otros factores, de la intensidad de selección y de la precisión en la estimación del mérito genético. Dada la gran capacidad reproductiva de los organismos utilizados en Acuicultura, en los programas de mejora se pueden aplicar altas intensidades de selección. Además, puesto que las familias pueden ser muy grandes, la utilización de información familiar permite evaluaciones muy precisas incluso para caracteres de baja heredabilidad.

Como contrapartida, estas mismas características reproductivas, junto con las dificultades para llevar a cabo un control de las genealogías, conllevan que puedan existir graves problemas de consanguinidad, ya que una sola pareja puede ser suficiente para obtener todos los individuos de la población en la siguiente generación. Aunque hay pocas estimas de la depresión consanguínea en organismos acuáticos, parece que sus efectos deletéreos parecen similares a los que ocurren en poblaciones ganaderas (LÓPEZ-FANJUL y TORO, 1990) y, además, la pérdida de variabilidad asociada puede comprometer tanto la selección a largo plazo como la posible respuesta si se decidiera modificar el objetivo de selec-

ción. Por último, aunque la predicción de la respuesta a la selección cuando se usan evaluaciones con información familiar es bien conocida (FALCONER y MACKAY, 1996), la predicción de las tasas de consanguinidad asociada está menos desarrollada.

Durante los últimos años se han propuesto muchas estrategias para controlar la consanguinidad en programas de selección (TORO y PÉREZ-ENCISO, 1990; FERNÁNDEZ y TORO, 1999; VILLANUEVA *et al.*, 2004). El objetivo es o bien reducir la tasa de consanguinidad manteniendo el mismo (o superior) nivel de respuesta o bien incrementar la respuesta pero manteniendo un nivel prefijado de consanguinidad. Las estrategias propuestas se basan en: a) modificar el número de individuos seleccionados y su contribución a la siguiente generación; b) modificar el método de estimación del valor mejorante; c) implementar un adecuado sistema de apareamiento.

El objetivo del presente trabajo es simular una estructura familiar similar a la que ocurre en programas de selección en Acuicultura y: a) evaluar el mérito genético y el parentesco promedio de los individuos seleccionados asumiendo selección por truncamiento; b) establecer si existen soluciones alternativas respecto a los animales que hay que seleccionar de forma

que se obtenga una respuesta genética razonable sin que se incremente en exceso el parentesco promedio.

Métodos

Se ha simulado, con el modelo estadístico infinitesimal, un carácter cuantitativo (de media 50 y varianza fenotípica 100) con unos determinados parámetros h^2 y c^2 y una estructura familiar de hermanos y medios hermanos, asumiendo que M padres se aparean cada uno con F/M madres y de cada apareamiento se obtienen N hijos, la mitad de cada sexo. Se ha asumido una intensidad de selección tal que de los $M \times N/2$ hijos de cada sexo se seleccionan M machos o F hembras, esto es: que la estructura familiar se mantiene para la siguiente generación. Se han simulado dos situaciones: a) un esquema con $M = F = 25$ y $N = 100$ hijos por familia, en el que sólo existe hermanos (esquema FS); b) $M = 10$, $F = 50$ (5 hembras por cada macho) y $N = 50$, en el cual existen familias de hermanos y medios hermanos (esquema HS). La evaluación genética se hace mediante un índice familiar que, en estas situaciones sencillas, equivale al BLUP.

Para encontrar esquemas alternativos a la hora de elegir los individuos seleccionados se ha utilizado un algoritmo de *simulated annealing* (FERNÁNDEZ y TORO, 1999). La idea es identificar a los individuos seleccionados de forma que se maximice una combinación del mérito genético y del parentesco entre los seleccionados tal que $\bar{x} - \lambda f$ sea máximo, siendo $\bar{x}$ la media del mérito genético estimado, f el parentesco medio de los individuos seleccionados y λ

la importancia relativa que damos al mantenimiento de valores bajos de parentesco.

Resultados y discusión

En el cuadro 1 se presentan los datos del mérito genético promedio de los individuos seleccionados y de su parentesco global (incluyendo el parentesco de un individuo consigo mismo) para distintas situaciones (FS y HS), distintos valores de los parámetros genéticos (heredabilidades y ambiente común) y métodos de selección (por índice o fenotípica). Puede observarse que la respuesta utilizando un índice puede duplicar la que se obtiene con selección fenotípica pero, en contrapartida, el parentesco puede hasta multiplicarse por nueve.

La inclusión en la función a optimizar de un término dependiente del parentesco de los individuos seleccionados genera soluciones que, si bien rinden menos respuesta, aseguran niveles de parentesco más reducidos. Este efecto puede observarse en la figura 1, donde se representa la relación entre el parentesco y la respuesta a la selección según aumentamos el valor de λ , para el esquema HS y diferentes valores de la heredabilidad (h^2) y el ambiente común (c^2). El hecho de que la relación entre la respuesta y el parentesco no sea lineal pone de manifiesto que es atractivo, desde un punto de vista práctico, buscar una solución en la que se mantenga una respuesta razonable sin comprometer el esquema porque se genere un exceso de consanguinidad. En el cuadro 1, por ejemplo, se presentan soluciones alternativas (bajo el encabezamiento I*) en las que una disminución de la respuesta del 2 - 18% se ve acompañada de un reducción del parentesco del 38 - 80%. Una observación inte-

Cuadro 1. Respuesta esperada y parentesco entre los individuos seleccionados bajo diferentes esquemas

	h^2	c^2	Respuesta			Parentesco de seleccionados		
			Índice	I*	Fenotipo	Índice	I*	Fenotipo
FS	0,10	0	4,46	3,77	2,27	0,18	0,05	0,02
		0,05	3,51	2,87	2,27	0,17	0,04	0,03
		0,10	3,09	2,52	2,28	0,15	0,03	0,03
	0,25	0	8,07	7,45	5,76	0,15	0,06	0,03
		0,05	7,21	6,64	5,74	0,14	0,05	0,03
		0,10	6,65	6,14	5,72	0,13	0,04	0,04
	0,10	0	4,16	3,78	2,35	0,14	0,06	0,03
		0,05	3,42	3,02	2,33	0,13	0,05	0,03
		0,10	3,13	2,72	2,31	0,13	0,05	0,04
HS	0,25	0	7,57	7,41	5,78	0,13	0,08	0,04
		0,05	6,92	6,63	5,78	0,12	0,07	0,04
		0,10	6,55	6,27	5,77	0,11	0,06	0,04

FS: sólo hermanos; HS, hermanos y medios hermanos; h^2 : heredabilidad; c^2 : ambiente común; I*: selección por índice con restricción en el parentesco.

resante es que si el factor limitante en un programa es el mantenimiento de altos niveles de diversidad genética (muy bajos niveles de parentesco y consanguinidad), una recomendación apropiada sería la de realizar selección fenotípica, porque bajo estas condiciones el comportamiento es prácticamente idéntico al obtenido mediante BLUP (ver figura 1).

Conclusiones

Hemos tratado de mostrar que en programas de selección en Acuicultura, si se

utilizan adecuados métodos de optimización, es posible mantener unos niveles muy aceptables de respuesta manteniendo al mismo tiempo un control de la consanguinidad de forma que se evite un deterioro de la eficacia biológica a corto plazo y una respuesta continuada a medio plazo para el objetivo de selección.

El trabajo iniciado va a continuarse en el sentido de extender el número de generaciones estudiado y el implementar métodos más sofisticados como modificar las contribuciones de los individuos seleccionados a la siguiente generación de forma que pueda reducirse el parentesco pero aumentando además la respuesta.

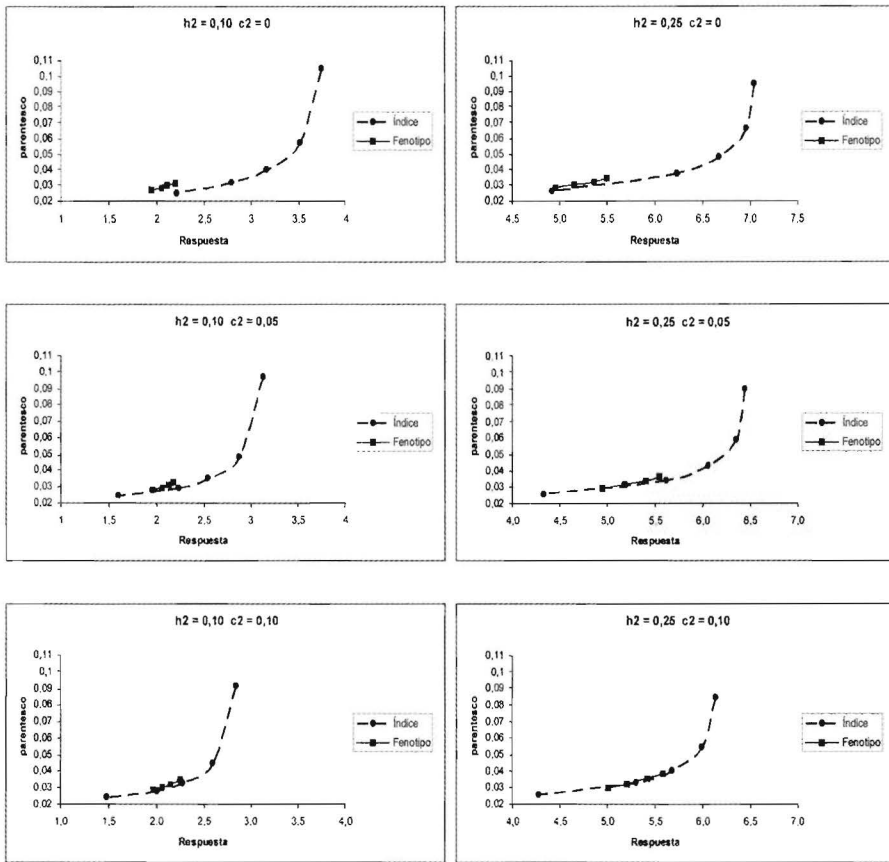


Figura 1. Respuesta esperada y parentesco entre los individuos seleccionados por su valor para el índice o su fenotipo con diferentes niveles de restricción sobre el parentesco generado (λ).

Bibliografía

- FALCONER D.S., MACKAY, T.F.C., 1996. *An Introduction to Quantitative Genetics*. 4th edition. Longman. Harlow, England.
- FERNÁNDEZ J., TORO M.A., 1999. The use of mathematical programming to control inbreeding in selection schemes. *J. Anim. Breed. Genet.* 116: 447-466.
- LÓPEZ-FANJUL C., TORO M.A., 1990. *Mejora genética de peces y moluscos*. Mundi-Prensa. Madrid.
- TORO M.A., PÉREZ-ENCISO M., 1990. Optimization of response under restricted inbreeding. *Genet. Sel. Evol.*, 22: 93-107.
- VILLANUEVA B., PONG-WONG R., WOOLLIAMS J.A., AVENDAÑO S., 2004. Managing genetic resources in selected and conserved populations. In: *Farm Animal Genetic Resources*.

ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DE LA REGIÓN DE TRANSMEMBRANA DEL GEN DEL RECEPTOR DE LA HORMONA DE CRECIMIENTO OVINA

J.A. Morán, J.J. Arranz, F. San Primitivo

Departamento de Producción Animal I, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071 León.

Introducción

Habitualmente se utilizan marcadores génicos anónimos, especialmente secuencias microsatélite, para realizar mapas de ligamiento. Estos mapas se emplean en la identificación de los genes que influyen sobre los caracteres cuantitativos de interés en producción animal (QTLs). Este método se ha utilizado en diferentes estructuras familiares que constituyen complejos pedigríes (GEORGES *et al.*, 1995; SPELMAN *et al.*, 1996; COPPIETERS *et al.*, 1998; WALLING *et al.*, 2000).

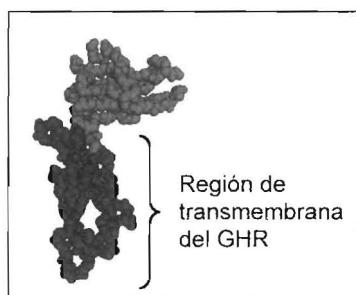
Una segunda aproximación al estudio de QTLs sigue la hipótesis de los genes candidatos. Un gen candidato es aquel que puede estar implicado en la expresión o fisiología de un carácter determinado. Los conocimientos bioquímicos o fisiológicos de que se dispone, permiten predecir si un gen puede ser estructural, regulador o si su actividad afectaría a la cadena bioquímica de síntesis o degradación de sustratos (LYNCH y WALSH, 1998). Esta hipótesis postula que una proporción significativa de la varianza genética de un carácter, se debe a la segregación de diferentes alelos de sus genes candidatos (BRYNE y McMULLEN, 1996). La estrategia "Gen candidato" ha funcionado eficazmente en la detección de genes que contribuyen en pequeña medida a la varian-

za total de un carácter y en poblaciones que poseen un bajo poder estadístico en estudios de ligamiento (EBSTEIN *et al.*, 1996; GELERNTER y CROWE, 1997).

Hemos emprendido el estudio de genes candidatos con la pretensión de poder mejorar el esquema de selección de la raza Churra. En la primera etapa, nuestro objetivo es identificar la existencia de variación genética, especialmente la que afecta a la estructura primaria de la proteína. Uno de los genes elegidos es el receptor de la hormona de crecimiento (GHR). Mediante estudios de marcadores microsatélites realizados en nuestro laboratorio, se ha encontrado un indicio de QTL para producción de leche en el cromosoma 16 muy próximo a la localización del marcador AGLA29 (GUTIÉRREZ-GIL, 2004 y EL-ZAREI, 2004). En esta misma región se localiza el locus GHR, por lo que este gen podría ser el responsable de la aparición del QTL. En 1998, ARRANZ *et al.* encontraron un QTL con efecto mayor en la producción y en la composición de la leche. Posteriormente, BLOTT *et al.* 2003, describieron una sustitución F por Y en la posición 279 de la secuencia aminoacídica del exón 8, en la región del dominio transmembrana del GHR, que podía explicar el QTL encontrado. La mutación afecta a la producción de leche (67 ± 16 kg.) y de grasa ($-1,4 \pm 0,6$ kg.). Además, justifica entre el 2,3% y el 5,5% de la varianza del porcenta-

je de grasa y entre el 0,7% y el 2,9% de la varianza de la producción de leche.

El objetivo de este trabajo es identificar la variabilidad existente en la región transmembrana del gen GHR en la raza Churra.



Material y métodos

Se han puesto a punto las condiciones de PCR para la utilización de los cebadores diseñados por BLOTT *et al.* (2003) para los exones 3, 4, 5, 6, 7 y 8 del gen GHR de la vaca.

Para aumentar las posibilidades de encontrar variabilidad, se preparó un panel formado por 30 animales de la raza Churra, 8 de la Castellana, 8 de la Assaff, 8 de la Merina, 4 de la Awassi, 4 de la Manchega, 4 de la Lacaune, 4 de la Latxa y 4 de la Milchschaft. En total 74 muestras diferentes.

Se pusieron a punto las condiciones para amplificar cada uno de los fragmentos que contienen los exones 3, 4, 5, 6, 7 y 8 del gen GHR. Todas las reacciones de PCR funcionaron bien a 60 °C y con concentraciones de MgCl₂ que variaron entre 1,5 y 3mM. Para cada fragmento se siguió este perfil PCR:

(94 °C-5'), 30 ciclos de (94 °C-30"; 60 °C-40"; 72 °C-40") y 72 °C-60' en termocicladores GeneAmp PCR System 9700 de Applied Biosystems.

Cada producto de PCR se sometió a análisis de polimorfismos de cadena simple (SSCP), de forma que se optimizaron las condiciones para maximizar la detección de mutaciones. Posteriormente se secuenciaron representantes de cada uno de los patrones electroforéticos para determinar su genotipo. El alineamiento de las secuencia resaltó los lugares de variación buscados. Se empleó un secuenciador MegaBACE 500 de Amersham Biosciences y ET terminators. Los resultados se comprobaron en la base de datos del NCBI, cuya dirección en internet es <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, y se procesaron mediante el software polyPhred. Posteriormente se editaron en el programa Consed. Adicionalmente se diseñó un script de shell que simplifica el análisis con estos paquetes informáticos.

Resultados y discusión

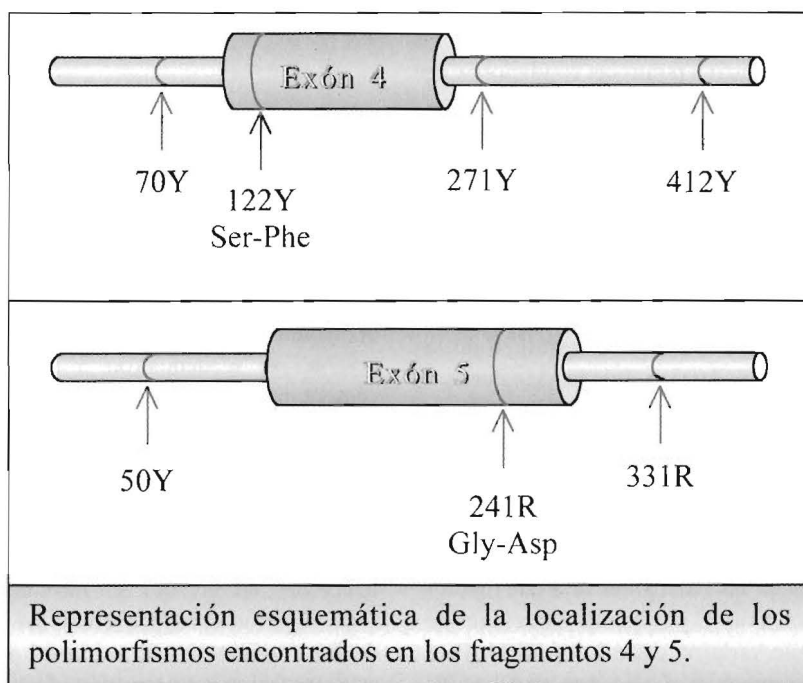
En el fragmento que contiene el exón 3 se obtuvieron 4 patrones electroforéticos distintos por análisis de SSCP. Cada patrón comprende una combinación diferenciada de bandas de cadena simple. Cuando fue posible, se secuenciaron 3 animales que presentaban cada uno de los patrones. De la secuenciación de estos individuos no se pudo extraer ninguna diferencia genotípica clara, a pesar de ser 4 los fenotipos estudiados. Esto no implica que tal diferencia no exista, sino que puede encontrarse en localizaciones en las que la fiabilidad de la secuenciación se reduce, como los extremos de los fragmentos. Si se da tal situación, estas mutaciones no tendrían efecto sobre la

secuencia primaria de la proteína, porque no incidirían sobre el exón 3, que está centrado en la secuencia del fragmento amplificado.

En el fragmento que engloba al exón 4 se encontraron 3 patrones electroforéticos distintos. Tras la secuenciación de los patrones, se obtuvieron 4 polimorfismos de un nucleótido (SNPs). Se localizaron 4 polimorfismos Y (C-T) en las posiciones 70, 122, 271 y 412 de la secuencia consenso. Se localizaron los homocigotos C y T en todas las posiciones, salvo en la 412, en la que únicamente encontramos el homocigoto T. Esta posición está cerca del extremo de la secuencia y en esta región la calidad de los electroferogramas (medida con el programa Phred), desciende notablemente. En cada uno de los patrones secuenciados se encontró más de un genotipo.

Este fenómeno podría explicarse si la técnica de SSCP detectara únicamente las diferencias conformacionales causadas por la modificación de la base de la posición 271, siendo la sensibilidad hacia las demás de muy baja entidad con respecto a esta. De esta manera, en el primer patrón se encontraron los genotipos YYY Y y TYYY, en el segundo patrón se encontraron los genotipos CCC Y, TCCT Y YCC Y y en el tercero los genotipos TYTT Y TTTT. El polimorfismo Y de la posición 121 se traduce en un cambio de aminoácido Ser, cuando la base es C, a aminoácido Phe, cuando la base es T, en la posición 48 de la secuencia polipeptídica.

En el fragmento que engloba al exón 5 se encontraron 6 patrones electroforéticos distintos. La secuenciación de estos patrones mostró 3 SNPs localizados en las posicio-



nes 50, 241 y 331 de la secuencia consenso. En la posición 50 se localiza una variación Y (C-T) de la cual se han encontrado los 2 homocigotos C y T. En la posición 241 se localizó un polimorfismo R (G-A) del cual sólo se ha observado el homocigoto G. En la posición 331 se encontró el heterocigoto R (G-A) del cual sólo se ha observado el homocigoto G. El genotipo para el primer patrón electroforético es CGG. En el segundo patrón electroforético se encontraron los genotipos YRG y TGR. En el tercer patrón el genotipo es YGG, en el cuarto el genotipo es YRG, en el quinto el genotipo es YRG y en el sexto el genotipo es CGG. El polimorfismo R de la posición 241 se traduce en un cambio de aminoácido Gly, cuando la base es G, a aminoácido Asp, cuando la base es A, en la posición 130 de la secuencia polipeptídica.

En el fragmento que engloba al exón 6 se diferenciaron 3 patrones de SSCP. La secuenciación de estos patrones sólo mostró un SNP en la posición 294 de la secuencia consenso. Se trata de un polimorfismo Y(T-C) del cual sólo se ha encontrado el homocigoto T. El primer patrón mostró el genotipo T, el segundo patrón mostró el genotipo Y y el tercer patrón mostró el genotipo T.

En el fragmento que contiene el exón 7 se obtuvieron 5 patrones electroforéticos. De la secuenciación de estos patrones se obtuvo un único SNP. En la posición 44 apareció un polimorfismo Y (C-T) del que sólo se ha encontrado el homocigoto T. En el primer patrón se obtuvo el genotipo C, en el segundo el genotipo T, en el tercero el genotipo T, en el cuarto el genotipo Y y en el quinto el genotipo T.

De la secuenciación del fragmento que contiene el exón 8 se obtuvieron 6 patrones

de SSCP. Tras la secuenciación de estos no se ha encontrado ningún SNP.

Como conclusión, los resultados obtenidos permiten suponer la existencia de variabilidad en la secuencia primaria de la proteína, al menos en 2 puntos, pudiendo, teóricamente, encontrarse estas estructuras proteicas:

	48	130
1	Ser	Gly
2	Ser	Asp
3	Phe	Gly
4	Phe	Asp

El paso siguiente tendrá por objeto buscar la existencia de estos potenciales alelos en una muestra de diferente tamaño de ovejas de la raza Churra para estimar las frecuencias y buscar posibles asociaciones con caracteres productivos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología, proyecto AGL2002-01413.

Bibliografía

- ARRANZ J.J., COPPIETERS W., BERZI P., CAMBISANO N., GRISART B., KARIM L., MARQ F., MOREAU L., MEZER C., RIQUET J., SIMON P., VANMANSHOVEN P., WAGENAAR D., GEORGES M., 1998. A QTL affecting milk yield and composition maps to bovine chromosome 20: A confirmation. *Animal Genetics*, 29:107-115.
- BLOTT S., KIM J., MOISSIO S., SCHMIDT-KÜNTZED A., CORNET A., BERZI P., CAMBISANO N., FORD C.,

- CRISART B., JHONSON D., KARIM L., SIMON P., SNELL R., SPELMAN R., WONG J., VILKKI J., GEORGES M., FARNIR F., COPPIETERS W., 2003. Molecular dissection of a Quantitative Trait Locus. A Phenylalanine-to-Tyrosine substitution in the transmembrane domain of the bovine Growth Hormone Receptor is associated with a major effect on milk yield and composition. *Genetics*, 163:253-266.
- BRYNE P.F., McMULLEN M.D., 1996. Defining genes for agricultural traits: QTL análisis and the candidate gene approach. *Probe*, 7:24-27.
- COPPIETERS W., RIQUET J., ARRANZ J.J., CAMBISANO N., GRISART B., MARQ F., MOREAU L., NUZER N., SIMON P., VANMANSHOVEN P., WAGENAAR D., GEORGES M., 1998. A QTL with major effect on milk yield and composition maps to bovine chromosome 14. *Mammalian Genome*, 9:540-544.
- EBSTEIN R.P., NOVICK O., UMANSKY R., 1996. Dopamine D4 (D4DR) exonIII polymorphism associated with the human personality trait of novelty seeking. *Nature Genetics*, 12:78-80.
- EL-ZAREI M.F., 2004. Detección de QTLs implicados en la producción láctea y en la morfología mamaria mediante secuencias microsatélite en el ganado ovino. Tesis doctoral. Universidad de León. España.
- GELERNTER J., CROWE R.R., 1997. Candidate genes and psychiatric genetics: tomorrow never knows. *Psychiatric Annals*, 27:262-267.
- GEORGES M., NIELSEN D., MACKINNON M., MISHRA A. *et al.*, 1995. Mapping quantitative trait loci controlling milk production by exploiting progeny testing. *Genetics*, 139:907-920.
- GUTIÉRREZ-GIL B., 2004. Detección de regiones genómicas con influencia sobre caracteres de producción láctea y morfología mamaria en el ganado ovino de raza Churra. Tesis doctoral. Universidad de León. España.
- LYNCH M., WALSH B., 1998. *Genetics and analysis of quantitative trait*. Sinauer associated Inc., Sunderland MA, USA.
- SPELMAN R., COPPIETERES W., KARIM L., VAN ARENDONK, J.A.M., BOVENHUIS H., 1996. Quantitative trait loci analysis for five milk production traits on chromosome six in the Dutch Holstein-Friesian population. *Genetics*, 144:1799-1808.
- WALLING G.A., VISSCHER P.M., ANDERSON L., ROTHSCCHILD M.F. *et al.*, (2000). Combined analyses of data from quantitative trait loci mapping studies. Chromosome 4 effects on porcine growth and fatness. *Genetics*, 155:1369-1378.

BÚSQUEDA DE REGIONES GENÓMICAS CON INFLUENCIA SOBRE LA RESISTENCIA A LAS TRICOSTRONGILIDOSIS EN EL GANADO OVINO DE RAZA CHURRA

J.J. Arranz*, J. Pérez, M.F. El Zarei*, B. Gutiérrez-Gil*, L.F. de la Fuente*, L. Álvarez*, Y. Bayón*, F. San Primitivo*, F.A. Rojo-Vázquez****

* Dpto. Producción Animal I, Facultad de Veterinaria, Universidad de León. 24071 León

** Dpto. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León. 24071 León

Introducción

Las parasitosis gastrointestinales son una de las enfermedades más importantes en los rumiantes domésticos afectando, fundamentalmente, a los animales cuyo sistema de explotación está basado en el pastoreo (PERRY *et al.*, 2002). El impacto de estas infecciones en el ganado ovino es muy elevado, tanto desde el punto de vista económico como del sanitario. Económicamente, la incidencia de la parasitosis es doble. Por una parte los animales parasitados presentan un menor nivel productivo, ya que los nematodos gastrointestinales reducen la eficiencia de los nutrientes, causando un menor potencial tanto en crecimiento como en producción de leche. Por otra parte, es necesario contemplar el impacto económico que supone el tratamiento con antihelmínticos. En general, en España se ha estimado que las infecciones por tricostrongídeos ovinos afectan alrededor del 90 % de los rebaños y estas infecciones son responsables del 30% de las pérdidas económicas en el ganado ovino (PÉREZ, 2003). Desde el punto de vista sanitario, los animales parasitados presentan una mayor susceptibilidad

ante infecciones concomitantes y, al ser tratados con fármacos, estos productos pueden dejar residuos en la leche y/o en la carne, que afecten a su calidad.

El control de las parasitosis se ha realizado de forma tradicional utilizando antihelmínticos. Estos tratamientos se han mostrado eficaces, aunque en los últimos años hay numerosos estudios que han demostrado la existencia de fenómenos de resistencia por parte de los nematodos frente a los vermífugos (ÁLVAREZ SÁNCHEZ, 2003; JACKSON and Coop, 2000; WALLER, 1997). Existen otras estrategias complementarias de control, entre las que se han señalado la vacunación, diferentes tácticas de pastoreo rotacional para minimizar el contacto de los animales con el parásito, la existencia de hongos con actividad nematofágica y, principalmente, la utilización de animales genéticamente resistentes a las infecciones por nematodos (WOOLANSTON and PIPER, 1996; WOOLANSTON and WINDON, 2001). El fenómeno de resistencia genética a las parasitosis gastrointestinales ha sido ampliamente estudiado en el ganado ovino y en otras especies de animales domésticos, desde las primeras décadas del siglo XX

(BISHOP *et al.*, 2002). En general, se estima la resistencia de los animales a las nematodosis gastrointestinales como una medida de la capacidad del hospedador para limitar el establecimiento, el crecimiento, la fecundidad y la persistencia de la población parasitaria. Los componentes de la resistencia son complejos y entre ellos se han citados mecanismos relativos a la inmunidad humoral y la celular, aspectos nutricionales, momento fisiológico y productivo etc. (GASBARRE and MILLAR, 2000). Por lo que respecta al componente genético, se ha estimado en diversas situaciones con valores de heredabilidad variables y que oscilan entre 0,2 y 0,6 (STEAR *et al.*, 2001). Por lo que se refiere a los parámetros utilizados para medir la resistencia, en el ganado ovino uno de los mejores indicadores es el recuento de huevos en heces (FEC). En los últimos años se han evaluado otros indicadores como la cantidad de IgA o la concentración de pepsinógeno en sangre como indicador del daño tisular.

En el presente trabajo nos hemos propuesto como objetivo la búsqueda de las regiones genómicas que afectan a la resistencia genética al padecimiento de gastroenteritis producida por tricostrongílidos, en el ganado ovino de raza Churra.

Material y métodos

Material animal

El diseño experimental utilizado ha sido el diseño hija, compuesto por un total de 322 animales pertenecientes a ocho familias de medio-hermanas. Los animales han sido muestreados en siete rebaños del núcleo de selección de la asociación de criadores de ganado ovino selecto de raza Churra (ANCHÉ).

Marcadores

Se ha optado por la realización de un barrido genómico y para ello se ha analizado un total de 165 microsatélites localizados sobre los 26 autosomas del ganado ovino. El número de marcadores empleado en cada uno de los cromosomas ovinos analizados y el tamaño medio del intervalo entre marcadores se describe en BARILLET *et al.* (2004).

Los microsatélites han sido co-amplificados en una serie de reacciones PCR-multiplex y se han separado mediante electroforesis en un secuenciador semiautomático ABI PRISM 377. La identificación alélica se ha llevado a cabo mediante los programas GeneScan y Genotyper.

Fenotipos utilizados

Como indicadores de resistencia parasitaria se han utilizado los siguientes fenotipos:

- Recuento de huevos por gramo de heces el día 0 del experimento FEC_0 .
- Recuento de huevos por gramo de heces el día 60 FEC_{60} .

En ambos casos expresados como logaritmo neperiano del recuento coprológico bruto y corregido para los factores ambientales que han mostrado significación, es decir: rebaño, fecha de muestreo, intervalo entre muestreos, estado fisiológico y edad del animal.

- Concentración de IgA séricas.

Estimada mediante la técnica de ELISA y corregida para el intervalo entre muestreos

- Concentración de *pepsinógeno* en sangre

Estimada mediante la técnica fluorimétrica y corregida para el rebaño, época de muestreo, intervalo entre muestreos y proteínas séricas totales.

Análisis estadísticos

La detección de QTLs se ha realizado mediante el modelo descrito por KNOTT *et al.* (1996) utilizando el programa QTLexpress (SEATON *et al.*, 2000). Los niveles de significación *chromosomewise* se han obtenido

mediante 10.000 permutaciones de los fenotipos sobre los genotipos.

Resultados y discusión

En el cuadro 1 se presentan los resultados que han superado una significación del 5% *chromosomewise* en el barrido genómico realizado en la raza Churra. Como se puede observar, existen cinco regiones genómicas, pertenecientes a cuatro cromosomas autosómicos, que parecen tener influencia sobre los fenotipos estudiados.

Cuadro 1. Resultados que han superado el nivel de significación del 5% *chromosomewise* en el barrido genómico en la raza Churra

Cromosoma	Posición (cM Haldane)	Carácter	Valor de P (<i>chromosomewise</i>)
OAR1	153	<i>FEC</i> ₆₀	0,016
OAR1	37	<i>IgA</i>	0,038
OAR6	84	<i>FEC</i> ₆₀	0,005
OAR9	50	<i>IgA</i>	0,048
OAR14	1	<i>FEC</i> ₀	0,026
OAR20	34	<i>FEC</i> ₆₀	0,019

En el cromosoma 1 se han detectado dos regiones distintas que afectan a dos de los caracteres medidos, *FEC*₆₀ e *IgA*. En la región de 37 cM (proxima al marcador ILSTS044), se ha localizado un efecto que afecta al carácter concentración de *IgA*. En esta región, y en las proximidades del marcador MCM357, (BEH *et al.*, 2002), han encontrado un QTL con influencia sobre el carácter *FEC* de *Trichostrongylus columbriformis*. Por su parte, DIEZ-TASCÓN *et al.* (2002), han detectado un posible efecto

sobre recuento de huevos en heces de *T. columbriformis* y sobre el número de parásitos adultos en el abomaso. Esta última región coincide con la encontrada en el presente trabajo (37 cM) pero el carácter que ha mostrado evidencia de segregación ha sido el de concentración de *IgA*. En la zona de 153 cM sí se ha demostrado una clara segregación sobre el recuento de huevos el día 60 post tratamiento, aunque parece una zona claramente alejada de la primera, lo cual puede indicar que en este cromosoma pudiera haber

dos regiones relacionadas con la resistencia a las parasitosis digestivas. Una de ellas afectaría de forma directa a los mecanismos inmunitarios y coincide con los hallazgos de otros autores y otra más centromérica que parece segregarse en nuestra población, no habiendo sido descrita hasta ahora.

En el caso del cromosoma 6, hemos detectado una región con una clara influencia sobre el recuento de huevos en heces. Esta región parece ser una candidata muy sólida a ser la portadora de un gen que confiere a los animales resistencia a las gastroenteritis parasitarias, ya que hallazgos similares han sido descritos por varios autores (BEH *et al.*, 2002; DOMINIK *et al.*, 2003). Una situación similar ocurre en el cromosoma 20, donde existen diversos estudios que confirman una asociación positiva entre varias regiones de este cromosoma y los recuentos de huevos en heces. Hay que tener en cuenta que en este cromosoma ovino se localiza el complejo mayor de histocompatibilidad, que es el candidato posicional a verificar en análisis posteriores (STEAR *et al.*, 1996; BEH *et al.*, 2002).

Por lo que respecta a las dos regiones restantes, localizadas en los cromosomas 9 y 14, afectan a los caracteres de concentración de IgA en suero y recuentos en la primera visita a la explotación, respectivamente. No hemos encontrado en la bibliografía ninguna asociación de caracteres de resistencia a los parásitos y zonas de estos cromosomas, por lo que se requiere un estudio más profundo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto *Using genetics to improve the*

quality and safety of sheep products “genes-heepsafety” (QLK5-2000-00656) financiado por la Unión Europea.

Bibliografía

- ÁLVAREZ SÁNCHEZ M., 2003. La resistencia de los tricostrongídeos ovinos a los antihelmínticos. Situación en la provincia de León y desarrollo de nuevos métodos para su detección. Tesis Doctoral. Universidad de León.
- BEH K.J., HULME D.J., CALLAGHAN M.J., LEISH Z., LENANE I., WINDON R.G., MADDOX J.F., 2002. A genome scan for quantitative trait loci affecting resistance to *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *Anim. Genet.* 33, 97-106.
- BISHOP S.C., DE JONG M.C.M., GRAY G.D., 2002. Opportunities for Incorporating Genetic Elements into the Management of Farm Animal Diseases: Policy Issues. Technical Report Prepared for FAO. <http://www.fao.org/ag/magazine/bsp18-e.pdf>.
- DÍEZ TASCÓN C., MACDONALD P.A., DODDS K.G., McEWAN J.C., CRAWFORD A.M., 2002. A screen of chromosome 1 for QTL affecting nematode resistance in an ovine outcross population. *Proc. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Montpellier, France. Communication 13.37.
- DOMINIK S., FRANKLIN I.F., HUNT P.W., 2003. QTL analysis on data for parasite resistance from the CSIRO gene mapping flock. *Genet. Sel. Evol.* (in press).
- GASBARRE L.C., MILLER J.E., 2000. Genetics of helminth resistance. In *Breeding for disease resistance in farm animals* 2nd edition. Ed. By Axford, R.F.E., Bishop, S.C., Nicholas F.W. and Owen J. B.CABI publishing, Wallingford. UK.
- JACKSON F., COOP R.L., 2000. The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Parasitology* 120, S95-S107.
- PÉREZ J., 2003. Aproximación al concepto fenotipo ovino resistente a la gastroenteritis parasitaria producida por tricostrongídeos en la raza Churra. Tesis Doctoral. Universidad de León.

- PERRY B.D., McDERMOTT J.J., RANDOLPH T.F., SONES K.R., THORNTON P.K., 2002. Investing in animal health research to alleviate poverty. ILRI (International Livestock Research Institute), Nairobi, Kenya, 148 pp.
- SEATON G., HALEY C.S., KNOTT S.A., KEARSEY M., VISSCHER P.M., 2002. QTL Express: mapping quantitative trait loci in simple and complex pedigrees. *Bioinformatics* 18: 339-340.
- STEAR M.J., BAIRDEN K., BISHOP S.C., BUITKAMP J., EPPLEN J.T., GOSTOMSKI D., MCKELLAR Q.A., SCHWAIGER F.W., WALLACE D.S., 1996. An ovine lymphocyte antigen is associated with reduced faecal egg counts in four-month-old lambs following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. *Int J Parasitol.* 26: 423-428.
- STEAR M.J., BISHOP S.C., MALLARD B.A., RAADSMA H., 2001. The sustainability, feasibility and desirability of breeding livestock for disease resistance. *Res. Vet. Sci.* 71, 1-7.
- WALLER P.J., 1997. Anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.* 72, 391-405
- WOOLASTON R.R., PIPER L.R., 1996. Selection of merino sheep for resistance to *Haemonchus contortus*: genetic variation. *Anim. Sci.* 62, 451-460.
- WOOLASTON R.R., WINDON R.G., 2001. Selection of sheep for response to *Trichostrongylus colubriformis* larvae: genetic parameters. *Anim. Sci.* 73, 41-48.

DETERMINACIÓN DEL SEXO EN POLLITOS DE 1 DÍA

J.L. Campo, M.G. Gil, S.G. Dávila, I. Muñoz

Departamento de Mejora Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria, Apartado 8111, 28080 Madrid

Introducción

La industria avícola de puesta necesita exclusivamente pollitos hembra mientras que la industria de carne prefiere pollitos macho, por su mejor velocidad de crecimiento y conversión de alimento, aunque acepta pollitos de ambos sexos que suelen criarse separadamente. En la avicultura de puesta, se sacrifican cada año millones de pollitos macho el día del nacimiento, aproximadamente 4.000 millones en todo el mundo, originando problemas desde el punto de vista industrial (eliminación de esa enorme cantidad de pollitos, casi siempre con CO₂) y del bienestar animal. El sexado de pollitos de 1 día no sólo hay que hacerlo en las granjas de producción de aves comerciales, sino también en las de multiplicación de madres y abuelas (sólo hace falta un sexo de cada estirpe para producir un cruce comercial) y en las de selección de bisabuelas (sólo hace falta 1 gallo por cada 10 gallinas). El propósito de este trabajo es resumir los principales métodos de sexado y la contribución del departamento de Mejora Genética Animal a los mismos.

Métodos de sexado

Los dos métodos principales son el japonés y el genético. El método japonés con-

siste en separar los machos y las hembras por las características anatómicas de los bordes de la cloaca (JULL, 1934: *Poultry Science* 13, 250-254). Es el único que puede utilizarse en las estirpes puras de las granjas de selección y multiplicación, y es la mejor alternativa en las ponedoras de huevo blanco y en las aves de carne de plumaje blanco. Necesita personal altamente especializado con mucha destreza visual y manual. Con este método, la mortalidad del pollito en los primeros días aumenta, así como los problemas de bioseguridad derivados de la movilidad de este personal entre granjas. Un buen sexador procesará 1.000 pollitos/hora a un coste aproximado de 0.05 €/pollito.

El sexado genético consiste en utilizar una línea paterna (cromosomas sexuales iguales, Z/Z) y una línea materna (cromosomas sexuales diferentes, Z/W) que difieran en algún gen ligado al sexo, con el alelo dominante presente en la línea materna y el recesivo en la paterna. Los métodos más usados son el de la velocidad de emplume y el del color del plumaje (CRAWFORD, 1990: *Poultry Breeding and Genetics*).

El alelo dominante *K* para velocidad de emplume lenta permite separar los pollitos que lo llevan, comparando la longitud relativa de las plumas primarias y coberteras del ala, siendo ambos tipos de similar longitud cuando este alelo está presente y las primarias de mayor longitud que las cober-

teras en presencia del alelo normal (k^+). El cruce sería: $k^+/k^+ \times K/- \rightarrow K/k^+ : k^+/-$, llevando los pollitos macho el alelo para velocidad de emplume lenta y careciendo los pollitos hembra de él. Una persona experimentada puede sexar 2.000 pollitos/hora con este método, siendo su coste inferior al del método japonés (0.02 €/pollito). Se utiliza en ponedoras de huevo blanco y en aves de carne de plumaje blanco, aunque tiene dos inconvenientes. El primero de ellos es que está estrechamente ligado a un virus endógeno que puede causar un aumento en la susceptibilidad a la leucosis. El segundo es que los problemas de picaje y canibalismo son mayores en las poblaciones portadoras del alelo de emplume lento.

El método de sexado por el color del plumaje más usado en la actualidad se basa en el alelo dominante S para plumaje plateado, que permite separar los pollitos de color amarillo portadores de este alelo de los de color dorado portadores del alelo normal s^+ . El cruce sería en este caso: $s^+/s^+ \times S/- \rightarrow S/s^+ : s^+/-$, llevando los pollitos macho el alelo para color de plumón amarillo y careciendo los pollitos hembra de él. Para que este tipo de sexado funcione, el fondo genético del plumón del pollito tiene que ser de feomelaninas, normalmente debido a la interacción epistática entre los genes e^{Wh} (trigueño dominante) y Co (colombino). Con este tipo de sexado pueden separarse fácilmente 4.000 pollitos/hora siendo también el de menor coste (0.01 €/pollito). Se utiliza comercialmente en ponedoras de huevo marrón y en aves de carne de plumaje rojo.

Un segundo método de sexado por el color de plumaje se basa en el gen del barrado ligado al sexo (B), separando en este caso los pollitos que presentan una mancha blanca en la cabeza de los que no la llevan

debido a la acción del alelo normal (b^+). En este caso es imprescindible que el pollito tenga un fondo negro debido a la presencia de eumelaninas, producidas generalmente por el gen E . El cruce sería: $b^+/b^+ \times B/- \rightarrow B/b^+ : b^+/-$, llevando los pollitos macho el alelo para mancha blanca en la cabeza y careciendo los pollitos hembra de él. En la actualidad sólo se utiliza en las gallinas camperas de huevo marrón, pues tiene el grave inconveniente de que la gallina comercial negra y roja tiene la canal depreciada por los cañones de las plumas.

En fase experimental existe un tipo de sexado por el color del ojo (SANTOS y SILVERSIDES, 1996: *Poultry Science* 75, 585-588) basado en el alelo recesivo para albinismo imperfecto ligado al sexo (s^{al}), separando los pollitos que no tienen pigmentación en el ojo de los que tienen el ojo con pigmentación normal (s^+). El cruce sería: $s^{al}/s^{al} \times s^+/- \rightarrow s^+/s^{al} : s^{al}/-$, llevando los pollitos macho el alelo para ojo pigmentado y careciendo los pollitos hembra de él. La ventaja de este método es que puede hacerse antes del nacimiento del pollito, cuando el huevo lleva 10 días de incubación, obviando el problema de la eliminación masiva de los pollitos del sexo no deseado. La línea paterna además puede ser portadora del alelo plateado (S) en lugar del s^+ .

Uso de nuevas tecnologías

Los métodos basados en nuevas tecnologías identifican el sexo en el huevo de incubar, antes del nacimiento, aunque de momento no se utilizan a escala comercial. Los principales métodos utilizan marcadores moleculares asociados al cromosoma W (GRIFFITHS y col., 1998: *Molecular Ecology* 7, 1071-1075), citometría (NAKAMURA y

col., 1990: *Cytogenetics and Cell Genetics* 53, 201-205), o determinan los estrógenos dentro del alantoides (GILL y col., 1983: *General Comparative Endocrinology* 49, 176-186). El marcador molecular de mayor interés es el *CHD*, que aunque tiene homólogo en el cromosoma Z permite diferenciar ambos sexos, ya que los genes W_{CHD} y Z_{CHD} contienen intrones de diferente longitud que pueden distinguirse por la reacción de la polimerasa en cadena. La electroforesis producirá dos bandas en las hembras y una sola banda en los machos. Este método es demasiado lento (50 muestras/hora), caro, y requiere personal altamente especializado, por lo que actualmente sólo se utiliza en estudios de laboratorio y en programas de conservación.

La citometría permite identificar el sexo por diferencia en contenido de DNA entre los cromosomas W y Z, que al igual que en otras especies de vertebrados es un 2% aproximadamente mayor en el sexo homogamético. Aunque este método es más rápido que el anterior (150 muestras/hora) necesita instrumental de muy elevado coste.

El sexo del embrión puede también distinguirse analizando los estrógenos en el fluido del alantoides, presentes en las hembras pero no detectables en los machos. Se está desarrollando un prototipo comercial capaz de procesar 25.000 huevos/hora, por lo que éste podría ser el método del futuro. El porcentaje de incubabilidad disminuye casi un 2% cuando se utiliza el procedimiento.

Estudios genéticos en el departamento de mejora animal

El primer estudio (CAMPO y RUANO, 1986: *18th World's Poultry Congress* 1, 551-

553) trataba de utilizar para el sexado genético el gen barrado ligado al sexo (*B*) en pollitos con feomelaninas (genotipo $e^{Wh}/e^{Wh} Co/Co$), en lugar de con eumelaninas, pertenecientes a la raza Vasca Roja Barrada. En dicho fondo genético, el gen barrado no origina una mancha blanca en la cabeza sino que reduce la intensidad de color del plumón cuando está presente en dosis doble (en los machos). La precisión del sexado sólo llega al 85% (87% en las hembras *B/-* y 83% en los machos *B/B*), aunque puede utilizarse en estirpes puras, volviendo a sexar los pollitos dudosos por el método japonés.

Un segundo estudio (CAMPO, 1991: *Poultry Science* 70, 1469-1473) analizaba el uso del gen *B* en un fondo genético melanótico colombino ($e^{Wh}/e^{Wh} Co/Co MI/MI$) de la raza Castellana Codorniz, en el que el gen melanótico (*MI*) modifica el color dorado del plumón y produce un color gris o negro, especialmente en la zona dorsal. Después de cuatro generaciones de selección para eumelaninas, el 100% de los pollitos tenía el plumón negro con las feomelaninas limitadas a la zona facial, mientras que en la generación inicial de selección sólo el 75% tenía de este dicho plumón. En este fondo genético era posible utilizar el gen barrado ligado al sexo asociando los machos a la mancha blanca en la cabeza. El cruce sería: $b^+/b^+ \times B/- \rightarrow B/b^+ : b^+/-$. La precisión del sexado es del 97% (100% en los machos y 94% en las hembras), y puede utilizarse en cruces comerciales de puesta o de carne con plumaje coloreado.

Este mismo fondo genético ($e^{Wh}/e^{Wh} Co/Co MI/MI$) puede utilizarse para separar machos y hembras por medio del gen plateado ligado al sexo (*S*), ya que el plumón del pollito será negro con la cara plateada si este alelo está presente o negro con la cara

dorada si está presente el alelo normal (s^+). El cruce sería en este caso: $s^+/s^+ \times S/- \rightarrow S/s^+ : s^+/-$. La precisión del método es del 96%, 97% en los machos y 96% en las hembras (CAMPO, 1996: *20th World's Poultry Congress* 4, 20).

El sexado genético por el color de la pata (CAMPO y DÁVILA, 2003: *3rd European Poultry Genetics Symposium* 1, 63) es posible utilizando un alelo (id^P) presente en la raza Prat Blanca. Aunque la pigmentación dérmica asociada con el alelo normal (id^+)

de este locus no se expresa hasta las 12 semanas de edad, el alelo presenta en la raza Prat se expresa en el pollito de 1 día y puede usarse en cruces comerciales. En el cruce Prat Blanca x Leghorn Blanca, la precisión del sexado es el 92% (100% en las hembras y 85% en los machos), teniendo los pollitos hembra las patas pigmentadas y los pollitos macho las patas sin pigmentar, debido a la acción del alelo dominante inhibidor de la melanina dérmica (Id) presente en la Leghorn. El cruce sería: $id^P/id^P \times Id/- \rightarrow Id/id^P : id^P$

RESULTADOS PRELIMINARES DE UN EXPERIMENTO F2 EN CERDOS PARA DETECTAR QTL CON EFECTOS EN LA PROLIFICIDAD

J.L. Noguera*, G. Muñoz**, A. Tomás***, L. Varona*, C. Barragán**, O. Ramírez***, M. Arqué*, C. Rodríguez**, A. Sánchez***

* Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Lleida 25198

** Dpto. Mejora Genética Animal, SGIT-INIA, Madrid 28040

*** Unitat de Genètica i Millora Animals, Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària, UAB. Bellaterra 08193

Introducción

La prolificidad en el ganado porcino es el carácter más importante para mejorar genéticamente la productividad numérica (número de lechones por cerda y año). Su baja heredabilidad ha hecho difícil su mejora por los métodos clásicos de selección (HALEY *et al.*, 1988). No obstante, en la última década, la aplicación de metodologías de evaluación genética, tal como el BLUP, han posibilitado la obtención de tasas de respuesta significativas y no despreciables (SORENSEN *et al.*, 2000; NOGUERA *et al.*, 2002).

Por otra parte, la tasa de mejora de la prolificidad podría ser incrementada si los genes que controlan los procesos fisiológicos subyacentes se conocieran y se aprovechara la gran variabilidad existente en las poblaciones porcinas. El rápido desarrollo de la genética molecular, en los últimos años, está aportando mucha información sobre el genoma porcino. El mapa genético porcino contiene hoy más de 2900 marcadores localizados, de los cuales cerca de

1000 corresponden a genes funcionales además de más de 6000 secuencias (3.500 de los cuales son genes). Esta información ha facilitado la búsqueda de QTL (*Quantitative Trait Loci*) para caracteres de importancia económica mediante diversas estrategias de cruzamiento de líneas divergentes, entre ellas el diseño F2. Con estas estrategias se han podido localizar regiones del genoma asociadas a caracteres de interés económico. Los resultados publicados hasta ahora por diversos autores (CASSADY *et al.*, 2001; KONING *et al.*, 2001; KING *et al.*, 2003) en relación con la búsqueda de QTL y genes con efectos en la prolificidad en porcino, sugieren la presencia de algunos QTL para tamaño de camada, pero son poco claros y requieren confirmación

El objetivo de este trabajo es la presentación de resultados preliminares sobre la detección de QTL para prolificidad (número de lechones nacidos totales y vivos por parto) en un diseño F2 entre las razas porcinas Meishan e Ibérico (línea Guadyrbas).

Material y metodos

Material Animal

En el diseño experimental F2 se han utilizado como líneas parentales 3 machos de raza ibérica (línea *Guadyerbas*, GU) del CIA *Dehesón del Encinar* (Oropesa, Toledo) y 19 hembras de raza *Meishan* (MS) del Centro experimental de *Le Magneraud* (INRA, Francia). Estas líneas son ampliamente divergentes, de las más extremas existentes respecto de los caracteres reproductivos, p.e.: 14,39 nacidos vivos en MS (DESPRÈS *et al.*, 1992) y 7,02 en GU (SILIÓ *et al.*, 2001). Los animales F1, producto del cruzamiento de las dos líneas parentales, se obtuvieron mediante IA en el centro de *Le Magneraud*. A una edad comprendida entre los 30 y 120 días, los lechones F1 fueron trasladados a la granja experimental del IRTA (*NOVA GENETICA*, Solsona, Lleida) donde los animales fueron criados en condiciones intensivas, las habituales en una explotación de selección en cuanto a sistemas de alimentación, manejo de la reproducción y sanitarias.

La población F1 se constituyó con 8 machos y 108 hembras del total de animales F1 nacidos. A partir de esta generación F1 se obtuvo la generación F2. De las 541 hembras F2 producidas se eligieron al azar para la reproducción 330 hembras, de las cuales 259 realizaron al menos un parto. En el diseño experimental está previsto que las reproductoras F2 realicen 4 partos. Se registraron por cada parto producido el número total de lechones nacidos, nacidos vivos y momificados. En el cuadro 1 se muestran el número de camadas registradas por orden de parto.

Genotipados

La extracción de ADN genómico se realizó según los protocolos habituales, a partir de sangre en el caso de los animales parentales y F1, y a partir de sangre y colas en el caso de las F2.

Los microsatélites se analizaron por PCR mediante marcado fluorescente en un equipo de electroforesis capilar (ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer). En la elección de los microsatélites se tuvo en cuenta la posición de éstos en el genoma y su variabilidad, estimada mediante el índice de informatividad de RON (IR; RON *et al.*, 1995) en los parentales. Se utilizaron como marcadores 5 polimorfismos de genes y 110 microsatélites, repartidos entre los 18 autosomas. El número de marcadores por cromosoma oscila entre 4 (cromosoma 18) y 9 (cromosoma 6), con una media de 6,4 marcadores por cromosoma. El intervalo medio entre marcadores es de 17,4 cM.

Análisis estadísticos

El análisis de ligamiento, con los datos obtenidos del genotipado, se llevó a cabo mediante el programa CRIMAP versión 2.4 (GREEN *et al.*, 1990). Las distancias de ligamiento observadas son semejantes a las publicadas en otros mapas (<http://www.genome.iastate.edu/maps/marcmmap.html>).

El análisis de QTL se realizó mediante un modelo de regresión de acuerdo con HALEY *et al.* (1994), utilizando el programa *QTL Express* implementado en la web (SEATON *et al.*, 2000) en <http://qtl.cap.ed.ac.uk>, para el cálculo de los coeficientes, y *software* propio. El modelo asume que los QTL posibles son dialélicos con alelos alternativos fijados en cada una de las razas parentales. En este

caso *QQ* para el genotipo *Ibérico* (con efecto *a*) y *qq* para el genotipo *Meishan* (con efecto $-a$). Se utilizaron todos los partos registrados. Se asumió cada parto como variable independiente. El modelo de regresión fue el siguiente:

$$y_{ij} = F_i + c_a a + c_d d + e_{ij}$$

donde y_{ij} es la observación *ij*, F_i es el efecto fijo asociado a la familia de hermanos completos *i* (*i*= 1 a 99 niveles), *a* es el efecto aditivo, *d* el efecto de dominancia y e_{ij} es el efecto residual. El coeficiente c_a es la probabilidad *P(QQ)-P(qq)* y c_d es la probabilidad *P(Qq)*, donde *P(QQ)* es la probabilidad de ser homocigoto de origen *Ibérico*, *P(qq)* es la probabilidad de ser homocigoto de origen *Meishan* y *P(Qq)* es la probabilidad de ser heterocigoto.

Los umbrales de significación cromosómicos se calcularon mediante la técnica de permutación de los datos cromosoma a cromosoma (CHURCHILL y DOERGE, 1994), realizándose 10.000 permutaciones. Los umbrales de significación a nivel genómico al

5% y al 1% se calcularon mediante la misma técnica de permutación de los datos considerando todo el genoma. Los umbrales de significación cromosómicos medios al 5% y al 1% fueron 5,3 y 7,1 respectivamente. Los umbrales de significación genómicos al 5% y 1% fueron 8,5 y 10,3 respectivamente.

Resultados

Los resultados fenotípicos de prolificidad de las hembras F2 se muestran en el cuadro 1. El número de camadas de 3º y 4º parto es bajo debido a que un número importante de cerdas, en torno a 190, aún no han completado los cuatro ciclos previstos en el proyecto.

Los resultados de los análisis de QTL se presentan en los cuadros 2 y 3 para el número de lechones nacidos vivos y totales, respectivamente. Para estos mismos caracteres los perfiles de F se muestran en las figuras 1 y 2, respectivamente. Un QTL altamente

Cuadro 1. Resultados de las hembras F2 en prolificidad

	Orden de parto				
	1	2	3	4	Todas
Nº de camadas	259	220	163	38	680
Nacidos Totales					
Media	8,8	8,5	9,4	9,7	8,9
DT*	3,0	3,1	2,9	2,7	3,0
CV**	34,4	36,9	30,6	28,0	34,0
Nacidos Vivos					
Media	7,8	8,2	8,9	9,4	8,3
DT	3,4	3,0	2,9	2,6	3,1
CV	43,3	36,5	32,4	27,4	37,8

*DT: Desviación Típica.
**CV: Coeficiente de variación.

significativo a nivel genómico ($p<0,01$), para número lechones nacidos vivos, mapea en la posición 19 cM (límites del IC=7 a 26 cM) del cromosoma 12. Es importante señalar que el efecto aditivo va en dirección contraria a lo esperado: el alelo Ibérico incrementa los lechones nacidos vivos (1,18), y presenta un importante efecto de dominancia (1,17), lo cual es esperable en este tipo de caracteres. En el cromosoma 1 se ha detectado un QTL, en la posición 54 cM (límites del IC=34-67), que alcanza el 1% a nivel cromosómico. En este caso es el alelo Meishan el que incrementa el número de nacidos vivos (0,80), de acuerdo con lo esperado.

Para el número total de lechones nacidos se ha detectado un QTL en el cromosoma 4, significativo al 1% a nivel cromosómico, en

la posición 67 cM (límites IC=56-73) con un fuerte efecto de dominancia del alelo Ibérico. El QTL detectado en el cromosoma 12 mapea en similar posición al encontrado para la variable nacidos vivos, siendo similares también la dirección y tamaño de los efectos aditivos y de dominancia, lo que sugiere que se trata del mismo QTL.

En la literatura científica no se ha descrito, según nuestro conocimiento, ningún QTL estadísticamente significativo en los cromosomas 1, 4 y 12 con efectos en el tamaño de la camada. Sin embargo, algunos autores han encontrado QTL sugestivos para la prolificidad. Así, CASSADY *et al.* (2000) sugieren la presencia de un QTL para nacidos totales ($p<0,05$) y para nacidos vivos ($p<0,10$) en el cromosoma 11, en un cruce F2 entre una línea control y una línea seleccionada para

Cuadro 2. Estimaciones de los efectos aditivos (a), dominancia (d), posición (IC) en el cromosoma y umbrales de significación a nivel cromosómico y genómico de los QTL significativos para Número de lechones nacidos vivos

Cromosoma	Posición (IC) cM	a (se)	d (se)	F	U.	U.	
					cromosómico $p=0,01$	genómico $p=0,05$	genómico $p=0,01$
SSC1	54 (34-67)	-0,80 (0,21)	0,35 (0,32)	8,01	7,1	8,5	10,3
SSC12	19 (7-26)	1,18 (0,23)	1,17 (0,42)	14,97			

Cuadro 3. Estimaciones de los efectos aditivos (a), dominancia (d), posición (IC) en el cromosoma y umbrales de significación a nivel cromosómico y genómico de los QTL significativos para Número de lechones nacidos totales

Cromosoma	Posición (IC) cM	a (se)	d (se)	F	U.	U.	
					cromosómico $p=0,01$	genómico $p=0,05$	genómico $p=0,01$
SSC4	67 (56-73)	-0,20 (0,25)	1,28 (0,34)	8,06	7,1	8,5	10,3
SSC12	21 (9-29)	0,96 (0,24)	1,21 (0,45)	10,04			

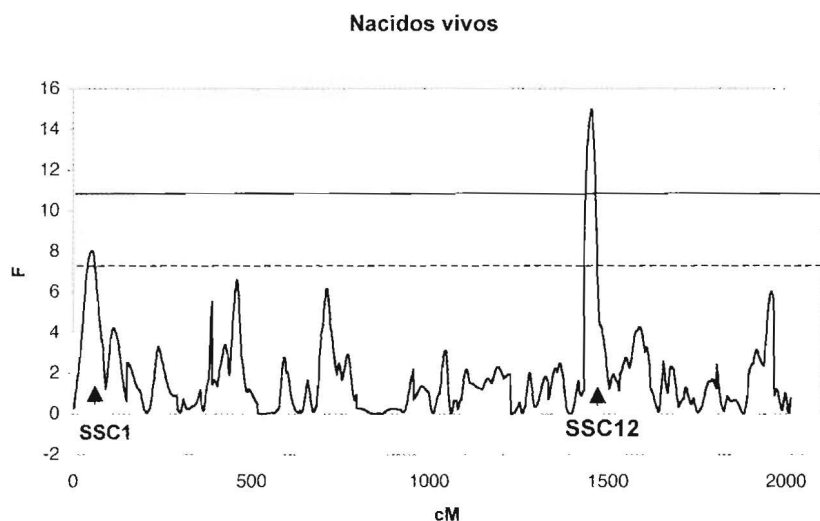


Figura 1. Perfil del valor F a lo largo de todo el genoma (2014 cM) en distintas posiciones y umbrales de significación para número de lechones nacidos vivos. La línea horizontal sólida indica el umbral genómico al 1% y la línea discontinua el umbral cromosómico al 1%. Se indican los cromosomas con QTL significativos.

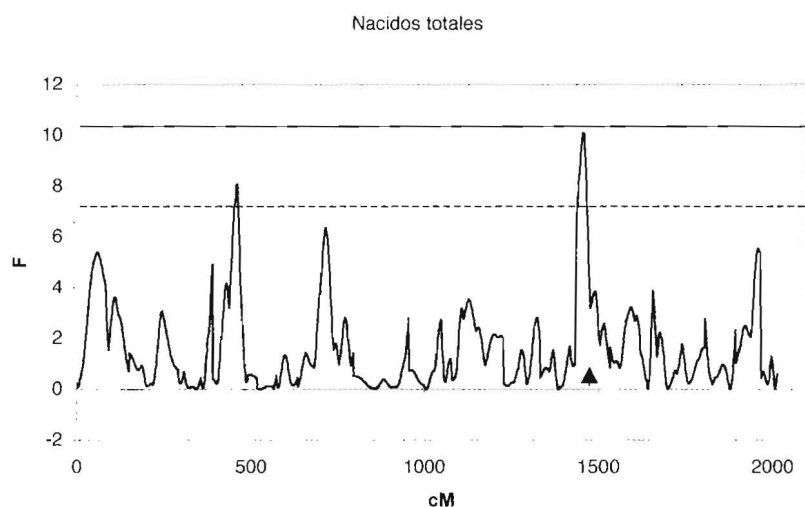


Figura 2. Perfil del valor F a lo largo de todo el genoma (2014 cM) en distintas posiciones y umbrales de significación para nacidos totales. La línea horizontal sólida indica el umbral genómico al 1% y la línea discontinua el cromosómico al 1%.

tasa de ovulación y supervivencia embrionaria. Por otra parte, de KONING *et al.* (2001) en un cruce F2, entre Meishan y Landrace, detectaron para el tamaño de camada un QTL putativo para el primer parto ($p=0,38$) en el cromosoma 7 y tres QTL putativos para el segundo parto ($p=0,26-0,61$) en los cromosomas 12, 14 y 17.

El modelo de análisis de QTL utilizado en este trabajo no ha tenido en cuenta las correlaciones existentes entre los partos, el efecto permanente de la cerda, ni ha considerado el efecto del orden de parto sobre el tamaño de camada, por lo que los resultados presentados pueden verse afectados por las asunciones realizadas. Las próximas investigaciones irán encaminadas a analizar los datos con un modelo más complejo que considere en el modelo estos elementos citados anteriormente e incluya también otros efectos genéticos no contemplados hasta el momento.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por MCYT (proyecto AGL2000-1229). A Jean Pierre Bidanel (INRA) y J.C. Caritez (INRA) por su inestimable colaboración. Al personal *Nova Genética* por su cooperación en el protocolo experimental en particular a E. Ramells, F. Márquez, I. Riart, R. Malé, F.

Rovira y M. González. A P. Garcia-Casado (INIA) y R. Sánchez (INIA) por sus contribuciones en la preparación de dosis seminales. Los autores agradecen especialmente las contribuciones del INRA (Francia) y del CIA *El Dehesón del Encinar* (Toledo) por proporcionar las cerdas puras Meishan y los verracos Guadyerbas, respectivamente.

Bibliografía

- CASSADY *et al.*, 2001. *Journal of Animal Science* 79: 623-633.
- CHURCHILL y DOERGE, 1994. *Genetics* 138: 963-971.
- DE KONING *et al.*, 2001. *Livestock Production Science* 72: 185-198.
- GREEN *et al.*, 1990. Documentacion CRI-MAP. <http://biobase.dk.Embnetut/Crimap>.
- HALEY *et al.*, 1988. *Animal Breeding Abstract* 56: 317-332.
- HALEY *et al.*, 1994. *Genetics* 136:1195-1207.
- KING *et al.*, 2003. *Biology of Reproduction*.68 (6): 2172-2179.
- NOGUERA *et al.*, 2002. *Journal of Animal Science* 80: 2548-2555.
- RON *et al.*, 1995. *Animal Genetics* 26: 439-441.
- SEATON *et al.*, 2002. *Bioinformatics* 18: 339-340.
- SILIÓ *et al.*, 2001. En *Porcino Ibérico: Aspectos claves*, pp: 125-149, Mundiprensa, Madrid.
- SORENSEN *et al.*, 2000. *Genetics* 156: 283-295.

ANÁLISIS PRELIMINAR DE LAS SECUENCIAS DEL CITOCROMO B Y ARNr12s EN DOS POBLACIONES DE PONI CÉLTICO DE ASTURIAS

L.J. Royo*, I. Álvarez*, I. Fernández*, J.P. Gutiérrez**, J.L. Martínez***, E. Gómez*, F. Goyache*

* SERIDA-Somío, C/ Camino de los Claveles 604, 33203 Gijón (Asturias). E-mail: ljoyo@serida.org

** Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria

*** Citometría e Inmunotecnología, Universidad de Oviedo, Oviedo

Introducción

La recuperación del Poni de raza Asturcón llevada a cabo por la asociación de criadores ACPRA (<http://www.asturcones.com/>) se ha basado fundamentalmente en individuos de capa negra. Recientemente se ha planteado la necesidad por parte de la Asociación de Criadores "García Dory" de la toma de urgentes medidas de protección sobre la población conocida como "Caballos de Corro" de Asturias, Asturcón Occidental o Asturcón Castaño. Esta población de animales ha sido descrita repetidas veces en tratados etnológicos durante todo el siglo XX (SOTILLO y SERRANO, 1985), existiendo grandes evidencias históricas de que hasta mediados del siglo pasado era la población de poni céltico mayoritaria en Asturias (ÁLVAREZ LLANA, 1995). El proyecto RZ03-011, financiado por el INIA, prevé la caracterización de ambas poblaciones de Poni Asturcón, al objeto de poder recomendar, a las asociaciones de ganaderos y administraciones públicas, estrategias coordinadas de conservación y gestión de ambas poblaciones.

El ADNmt proporciona la información molecular más utilizada en estudios sobre el origen, domesticación y difusión de las especies de ganado doméstico y, por supuesto, también en caballos (VILÀ *et al.*, 2001; JANSEN *et al.*, 2002). En un estudio previo (ROYO y col., 2004) hemos secuenciado un fragmento de la región de control de la replicación del ADNmt en animales pertenecientes a dos poblaciones equinas asturianas: Asturcón y Caballo de Corro de Asturias.

La región de control de la replicación del ADN mitocondrial es un fragmento de alta tasa de mutación, utilizable para evaluar relaciones genéticas estrechas entre poblaciones e individuos (ISHIDA y col., 1995). En la presente comunicación nos proponemos estudiar la información proveniente de la secuenciación de otras zonas del ADN mitocondrial: Citocromo B (CitB) y del ARN ribosomal 12s (ARNr12s); caracterizadas por tener una tasa de evolución más lenta (MINDELL y HONEYCUTT, 1990; OAKENFULL y col., 2000).

El objetivo de la presente comunicación es, por lo tanto, evaluar la capacidad informativa de las secuencias del CitB y ARNr12s

equino para establecer relaciones entre poblaciones cercanas.

Material y métodos

Se seleccionó al menos un individuo representativo de cada uno de los haplotipos de *D-loop*, presentes en cada población de poni asturiano estudiada (8 individuos de la población de poni asturcón y 5 de la población castaña; ver cuadro 1). Se amplificó por PCR un fragmento del Citocromo B y otro del ARNr12s siguiendo protocolos estándar, utilizando los oligonucleótidos

mostrados en el cuadro 2. La secuenciación de los fragmentos de PCR se llevó a cabo en un equipo ALFexpressII (Amersham Biosciences), utilizando el protocolo de secuenciación con oligonucleótidos marcados (Thermosequenase Primer Cycle Sequencing Kit, Amersham Biosciences). Se obtuvo la secuencia de los 13 animales elegidos entre los nucleótidos 14302-14730 del CitocromoB; y 508-921 del ARNr12s, tomando como referencia para su numeración la secuencia con número de acceso: X79547 (XU y ARNASON, 1994).

Los análisis de las secuencias obtenidas se realizaron mediante el uso del programa MEGA 2.1 (KUMAR *et al.*, 2001).

Cuadro 1. Haplotipos de ADN mitocondrial encontrado en los animales muestreados no emparentados de las poblaciones equinas asturianas

Haplotipo	Asturcón	Caballo de Corro
H1	4	8
H2		2
H3	1	
H4	1	
H5	1	
H6		1
H7	2	
H8	1	3
H9	1	
H10	1	
Nº Individuos	12	14
Nº Haplotipos	8	4

Cuadro 2. Secuencias de los oligonucleótidos utilizados para amplificar y secuenciar los fragmentos descritos del Citocromo B y ARNr 12s

oligonucleótido	Secuencia 5'-3'
Horse-citB-up	CCTCAAATTTTCATCATGATG
Horse-citB-dn	TGATGAAGGGTAGGATGAAGTG
Horse-12s-up	ACGATAGCTAAGACCCAAACTG
Horse-12s-dn	AAGGAGGGTGACGGGCGGTGTG

Resultados

En el caso de la secuencia del CitB, hemos encontrado 7 polimorfismos en 401 bases secuenciadas, distribuidos en 7 haplotipos diferentes (cuadro 3). Un mismo haplotipo (CitB-H3) resultó ser el más frecuente en las dos poblaciones de poni céltico asturiano. En la población de poni Asturcón encontramos 6 haplotipos diferentes y sólo 3 en el caballo de Corro. En el caballo Asturcón encontramos 4 haplotipos exclusivos, y solo uno en la población castaña (Caballo de Corro).

En el caso de la secuencia del ARNr12s, encontramos 3 polimorfismos en 414 bases secuenciadas, dando lugar a 3 haplotipos diferentes. El mismo haplotipo (12s-H1), resultó ser el más frecuente en ambas poblaciones de ponis asturianos, siendo la de Caballo de Corro monomórfica para este haplotipo. En el poni Asturcón se han encontrado otros 2 haplotipos más.

La diversidad haplotípica, es en ambos casos (Citocromo B y ARNr 12s) es mayor en la población de poni Asturcón que en la población de Caballo de Corro: 0,75-0,60 respectivamente para el caso del Citocromo B; y 0,38-0,20 respectivamente en el caso de ARNr-12s.

Discusión

Las poblaciones equinas asturianas de poni Asturcón y Caballo de Corro se diferencian fundamentalmente en la capa: mayoritariamente castaña en el Caballo de Corro y prácticamente en su totalidad negra para el poni Asturcón. La capa negra en caballos tiene carácter recesivo respecto de la capa castaña (RIEDER *et al.*, 2001), lo que explicaría que estuviera fijada en Asturcón y que, con cierta frecuencia, aparezca en Caballo de Corro. Esto podría considerarse un reflejo de la historia común que han man-

Cuadro 3. Haplotipos de Citocromo B. Se detallan las posiciones nucleotídicas (desde la 14352 a la 14672) en que se encuentran los sitios variables que definen los haplotipos y el número de haplotipos (N) y la diversidad haplotípica (k) encontrados por población analizada

	1111111 4444444 3445566 5275527 2483682	Asturcón	Caballo de Corro
CitB-H1	TTCTTAG	1	
CitB-H2	C.....	1	
CitB-H3	C....G.	3	3
CitB-H4	CC....A	1	1
CitB-H5	..T....	1	
CitB-H6	C..C.G.	1	
CitB-H7	C...CG.		1
	N	6	3
	k	0,75	0,60

Cuadro 4. Haplotipos encontrados en la secuencia del ARNr12s. Se detallan las posiciones nucleotídicas (desde la 738 a la 859) en que se encuentran los sitios variables que definen los haplotipos y el número de haplotipos (N) y la diversidad haplotípica (k) encontrados por población analizada

	788 355 889	Asturcón	Caballo de Corro
12s-H1	TTA	5	5
12s-H2	.C.	2	
12s-H3	C.G	1	
	N	3	1
	k	0,38	0,20

tenido ambas poblaciones equinas (ÁLVAREZ SEVILLA, 1999) y que la ausencia de selección para el color en Caballo de Corro permite que se manifieste ese carácter.

Para caracterizar desde el punto de vista genético ambas poblaciones de poni, se utilizó la secuenciación de un fragmento de la región de control del ADN mitocondrial (ROYO y col., 2004). Sin embargo hay que ser consciente de que en este tipo de regiones hipervariables, puede darse el caso, con cierta frecuencia, que múltiples sucesos de mutación afecten a una misma posición. Por ese motivo se decidió estudiar otras regiones con una tasa menor de evolución, donde este tipo de casos de múltiples sucesos de mutación en una misma posición sea menos probable, y de alguna manera poder corregir las conclusiones que se desprenden del estudio de unas regiones u otras.

El estudio de la región de control de la replicación ha encontrado una gran diversidad de haplotipos de ADNmt, señalando la existencia de un gran número de líneas maternas diferentes en la formación de las dos poblaciones, lo que concuerda con estudios previos de diversos autores en la espe-

cie equina (VILÀ *et al.*, 2001; JANSEN *et al.*, 2002). Aunque se encuentra una mayor diversidad haplotípica en Asturcón, el número de haplotipos que comparten ambas razas es muy grande. Estos datos se pueden ver en el cuadro 1.

Sin embargo hay que tener en cuenta que la región de control de la replicación del ADN mitocondrial tiene tanta variabilidad que hace posible que en poblaciones que han sufrido un cuello de botella reciente (como es el caso del poni Asturcón) se encuentre una gran cantidad de haplotipos. Esta situación, que ha sido descrita en otras poblaciones equinas de pocos efectivos como la Exmoor (JANSEN *et al.*, 2002) puede enmascarar la historia de la población.

Los resultados obtenidos de la secuenciación del CitB, parecen seguir a grandes rasgos los comentados para la región de control de la replicación. La población de Asturcón tiene una mayor diversidad haplotípica que el Caballo de Corro y se ha encontrado una menor diversidad haplotípica en general. Esta diversidad se acerca más a lo esperado desde el punto de vista del conocimiento de la historia reciente de las poblaciones bajo

estudio. Estos resultados señalan que en este caso puede ser útil el uso de la secuenciación del CitB en poblaciones cercanas.

En el caso de las secuencias del ARN12s la diversidad nucleotídica que se ha encontrado es muy baja (3 posiciones variables en 414 nucleótidos secuenciados), y por lo tanto no suficiente como para pensar en utilizar esta región en estudios de diversidad en poblaciones cercanas.

Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto **INIA-RZ03-011**, y para su realización se ha contado con el acuerdo y colaboración de la Asociación de Criadores "García Dory" y de la Asociación de Criadores de Poni de raza Asturcón (ACPRA).

Bibliografía

- ÁLVAREZ LLANA J., 1995. Morfología y caracteres raciales. En 'Asturcones', Álvarez Llana, J., Álvarez Sevilla, A. and Jáuregui Campos, J. Eds. Caja de Asturias Ed. 3-93 pp.
- ÁLVAREZ SEVILLA J.A., 1999. Protohistoria y ganadería. En El Ganado vacuno del Tronco Castaño, pp. 11-18, Imprenta Narcea S.L., Granda-Siero (Asturias).
- ISHIDA N., OYUNSUREN, T., MASIHIMA S., MUKOYAMA H., SAITOU N., 1995. Mitochondrial DNA sequences of various species of the genus *Equus* with special reference to the phylogenetic relationship between Przewalski's wild horse and domestic horse. *Journal of Molecular Evolution*, 41: 180-188.
- JANSEN T., FORSTER P., LEVINE M.A., OELKE H., HURLES M., ENFREW C., WEBER J., OLEK K., 2002. Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. *PNAS*, 99: 10905-10910.
- KUMAR S., TAMURA K., JAKOBSEN I.B., NEI M., 2001. MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software, *Bioinformatics*, 17: 1244-1245.
- MINDELL D.P., HONEYCUTT R.L., 1990. Ribosomal RNA in vertebrates: evolution and phylogenetic applications. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21: 541-566.
- OAKENFULL E.A., LIM H.N., RYDER O.A., 2001. A survey of equid mitochondrial DNA: Implications for the evolution, genetic diversity and conservation of *Equus*. *Conservation Genetics* 1: 341-355.
- RIEDER S., TAOURIT S., MARJAT D., LANGLOIS B., GUÉRIN G., 2001. Mutations in the agouti (ASIP), the extension (MC1R) and the brown (TYRP1) loci and their association to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*). *Mammalian Genome*, 12, 450-455.
- ROYO L.J., ÁLVAREZ I., GUTIÉRREZ J.P., FERNÁNDEZ I., GÓMEZ E., GOYACHE F., 2004. Variabilidad en el AND mitocondrial de dos poblaciones de poni céltico de Asturias. VI Congreso Ibérico sobre los Recursos Genéticos Animales, en Ponte da Lima (Portugal).
- SOTILLO J.L., SERRANO V., 1985. Producción Animal I. Etnología Zootécnica. Ediciones Tebar-Flores, Madrid, Spain.
- VILÀ C., LEONARD J.A., GÖTHERSTOÖM A., MARKLUND S., ANDBERG K., LINDÉN K., WAYNE R.K., ELLEGREN H., 2001. Widespread origin of domestic horse lineages. *Science* 291, 474-477.
- XU X., ARNASON U., 1994. The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: extensive heteroplasmy of the control region. *Gene*, 148, 357-362.

SELECTION FOR LIVE WEIGHT IN THE GIFT STRAIN OF NILE TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

R.W. Ponzoni*, A. Hamzah**, N. Kamaruzzaman*

* WorldFish Center, Jalan Batu Maung, 11960 Batu Maung, Penang, Malaysia

** National Prawn Fry Production and Research Center (NAPFRE), Kg. P. Sayak, 08500 Kedah, Malaysia

ABSTRACT

A fully pedigreed population based on the sixth generation of GIFT (Genetically Improved Farmed Tilapia) was established in Malaysia in 2002. Progeny were generated in two spawning seasons, 2002 and 2003. A number of statistical models were fitted to the data collected throughout the study, either to estimate breeding values (EBVs), variance components, or response to selection. Parents used in the spawning season of 2003 were either selected as having high estimated breeding values for live weight (LW) at approx. 7 months of age, or as having EBVs as close as possible to the average. In this way a Selection and a Control line were created, respectively. Two production environments were used to grow-out the progeny. At approx. 7 months of age females' live weight was 84 per cent that of males, whereas live weight in cages was 83 per cent of that in ponds. The heritability estimated from the animal variance component was 0.31 (s.e. 0.069), whereas the maternal and common environment effect estimated from the dam variance component was 0.15 (s.e. 0.031). Response to selection was estimated by three methods. Expressed as a percentage of the overall least squares mean for LW in the population, the response was about 10 per cent. The results are discussed in relation to other work. It was concluded that there was still additive genetic variance in the GIFT population established in Malaysia, and that it was capable of further response to selection. The issue of genotype by environment interaction is briefly discussed, and it was concluded that there was no justification for the conduct of separate genetic improvement programs in cage and in pond environments.

Key words: Nile Tilapia; Heritability; Breeding value; Selection response

Introduction

In Tilapia the focus of selection programs has been almost exclusively restricted to growth rate. Several estimates of heritability, in particular for live weight and growth rate, can be found in the literature (e.g. KRONERT *et al.*, 1989; OLDORF *et al.*, 1989; GALL and BAKAR, 2002; BOLIVAR and

NEWKIRK, 2002). In a strict sense, such genetic parameters are only applicable to the population and the environment where they were obtained. Furthermore, individual estimates are subject to sampling problems and the parameters can change over time. Hence, the desirability of having parameter estimates that are directly relevant to the population one is working with. In this paper we

present estimates of heritability for live weight (at approx. seven months of age) for fish of the GIFT (Genetically Improved Farmed Tilapia) strain (EKNATH *et al.*, 1993; BENTSEN *et al.*, 1998; EKNATH and ACOSTA, 1998), grown out in two environments (cage and pond). We also estimate the response to selection in harvest weight by three different methods. The issue of possible genotype (individual's genetic merit) by grow-out environment (cages or ponds) interaction is briefly examined. The results are presented in greater detail in two papers submitted for publication (PONZONI *et al.*, 2004a, b).

Materials and methods

The environment

The work was conducted at the Aquaculture Extension Center, Department of Fisheries, Jitra, Kedah State, Malaysia (latitude 6° N, longitude 100° E, altitude 23 m). The daily average temperature is 27° C, with little variation throughout the year. The annual rainfall is 2057 mm, occurring during the whole year but not in a uniform way. Rainfall in December, January and February (the driest months) is one half or less than in September and October (the wettest months).

The fish

The GIFT Foundation International Inc., Philippines, provided 63 full sib groups of 35 fish each, which were progeny from single pair mated parents (i.e. 63 males each mated to a different female). These fish belonged to the sixth generation of actual selection of GIFT (without counting the generations over

which the composite base population was created), and were received at Jitra in batches towards the end of 2000 and during the beginning of 2001. They were mated and produced a seventh generation in the spawning season of 2002, which in turn produced an eighth generation in 2003. No selection took place among the fish transferred from the GIFT Foundation, since they were received in batches and there were uncertainties regarding environmental factors that could be influencing their performance. Two lines were created with the 2002 progeny, one selected on high breeding value for live weight (Selection line, S), and another one selected for average breeding values (Control line, C). The number of sires and dams from which progeny was harvested in both spawning seasons and lines, as well as the number of progeny, are shown in table 1. The numbers were less than planned, mainly due to tag losses, but also partly due to mortality and elimination from the final data set of some individuals considered outliers. None of the parents used in the 2002 spawning season were used in 2003 (i.e. generations were discrete). Note that we consider the progeny produced in the 2002 spawning season our Base Population, and in our analyses we treat it as part of the established Control line.

The reproduction and management schedules for 2002 and 2003 are shown in table 2. The methodology used is described in the publication WorldFish Center (2004). Following the grow-out period the fish were harvested in the dates indicated in table 2.

The grow-out system

After tagging the fish were grown out either in cages or in earthen ponds. The cages were located in flowing water in an

Table 1. Number of sires, dams and progeny, by spawning season and line

Spawning season	Line	Sires	Dams	Progeny
2002	Base population	52	54	1684
2003	Selection	35	65	2560
	Control	19	19	1150
Total		106	138	5394

Table 2. Schedule of reproduction and management

Activities	Spawning season	
	2002	2003
Mating	February and March	January and February
Nursing hapas	February to April	January to March
Rearing hapas	March to May	February to April
Tagging	April to May	March to April
Grow-out	Ponds: June to October Cages: July to November*	Ponds: April to August Cages: April to September
Harvest	Ponds: 28 to 31 October Cages: 9 to 13 November	Ponds: 18 to 25 August Cages: 2 to 17 September

*Delayed stocking in cages because of the small size of fry in June.

irrigation canal at Kodiang, Kedah, 22 km away from Jitra. Four 3m long by 3m wide by 2.1m deep cages adjacent to each other were established, and the fish were assigned at random to them. The initial stocking density was 55 fish per m² of surface water. The fish were fed an amount equivalent to 3 to 5 per cent of their live weight per day. A commercial dry pelleted feed with 32 per cent protein content was fed twice a day (i.e. at 8.30a.m and 5.00p.m.). The 0.1 ha earthen pond was 0.1 located at the Aquaculture Extension Center, Jitra. The initial density in the pond was three to four fish per m² of surface water. The same feeding rate and frequency was used as for the cages. All the fish were harvested after (approx.) 120 days of grow out in either (cages or pond) of the environments.

Records

Data recording of all the tagged fish was done at harvest, when individual live weight (LW), total length, width and depth were measured. Width and depth were measured at the mid-side of the fish, where they were greatest. Sex of the fish was also recorded, and a subjective visual assessment was made of female sexual activity using the categorization described in WORLD FISH CENTER (2004). From the harvesting and spawning dates we are able to compute the age (in days) of each individual fish. In this paper we only report on the results for LW. Those for the other traits will be reported elsewhere.

Data analysis

The data were first examined using SAS (1990) to calculate simple statistics, remove anomalies and conduct a preliminary selection of the statistical models to be fitted. In a second phase, the computer program ASReml was used (GILMOUR *et al.*, 2002). The models fitted included the fixed effects of spawning season (2002 and 2003), selection line (S and C), environment (cage and pond), sex, and two-way interactions among them. Animal and dam (the non-genetic component) were fitted as random effects, whereas age of the fish was used as a covariate. The sub-set of these effects that was fitted varied, depending on the purpose of the particular analysis. Non-significant two-way interactions among the fixed effects were deleted from the model. On further examination we noted that the remaining interactions between fixed effects were unimportant and never involved reversal of rankings for levels of one effect in levels of another one. For that reason, and because they negligibly contributed to the goodness of fit of the model, all two-way interactions among fixed effects were finally discarded.

The analyses enabled the estimation of (animal model) breeding values for all fish, and these were used in making selection decisions in the Selection and Control lines, and in estimating the genetic trend. They also

enabled the estimation of variance components, from which phenotypic and genetic parameters were calculated.

Results

Descriptive statistics

Table 3 shows (for both seasons combined) the number of observations, simple mean, minimum and maximum, standard deviation and coefficient of variation values for LW in the two environments, and for age at harvest. The coefficient of variation was strikingly high. Plotting of residuals during preliminary analyses indicated that greater means were associated with greater variances. The square root transformation of LW improved the distribution of residuals and was used in all later analyses. Over the two spawning seasons the range in age at harvest was greater than within any one of the seasons due to harvesting at an earlier age in 2003 relative to 2002 (see table 2)

Estimates of sex and environmental effects

In the preliminary analysis the fixed effects of spawning season, line, sex and environment were fitted as fixed effects

Table 3. Number of observations (N), simple mean, minimum and maximum, standard deviation and coefficient of variation of LW (g) and age (days) at harvesting

Variable	N	Mean	Minimum	Maximum	Standard Deviation	Coefficient Variation(%)
LW (Cages)	3197	166	13	591	80.4	48
LW (Pond)	2197	192	7	617	116.1	60
Age at harvesting	5394	227	125	280	29.7	13

using PROC MIXED (SAS, 1997), as well as all possible two-way interactions. The latter were deleted from the model as earlier stated. Age of the fish was fitted as a linear covariate within spawning season, sex and environment. Sire (nested within spawning season and line) and dam (nested within sire, spawning season and line) were fitted as random effects. All the earlier men-

tioned fixed effects and the covariate were statistically significant ($P < 0.0001$). Table 4 shows the least squares means for LW in females and males, for cages and ponds. The differences between the sexes and between the environments were statistically significant. They were consistent with other reports in the case of sex, and with our observations in relation to growth rates in

Table 4. Live weight least squares means for environment by sex combinations

Environment	Sex	Least Squares Means (g)
Cages	Female	191 _a (8.2)*
	Male	223 _b (8.1)
Pond	Female	228 _b (6.4)
	Male	272 _c (6.3)

*Analysis conducted on LW, the significance levels were the same as for LW^{0.5}. Means with the same subscript do not differ significantly from each other. Standard errors in brackets.

cages and pond. In both environments, females' LW was 84 per cent that of males, whereas, averaged over both sexes, LW in cages was 83 per cent of that in ponds.

Phenotypic and genetic parameters estimated with ASReml

Because in the preliminary analyses interactions were either statistically non-significant or deemed unimportant (due to scale and not to reversal of rankings), for variance component estimation we fitted 'spawning season, line, sex, environment' classes (altogether 12 combinations). Age at harvest was used as a covariate, with the 'spline' option available in ASReml. The availability of a complete pedigree in the population enabled fitting an animal (random) model. Dam was fitted as another random effect, but solely accounting for the

environmental effect on the progeny, without a genetic structure. The dam variance component (σ^2_D) is in this case a combination of the maternal effect and the common environment (so $\sigma^2_D = \sigma^2_{M_{Ec}}$) to which full sibs are exposed early in life (i.e. while being hatched and while in the nursing and rearing hapas). The animal variance component provided the estimate of the additive genetic variance (σ^2_A), whereas the phenotypic variance (σ^2_P) was estimated from the sum of all variance components. The heritability (h^2) was computed in the usual way, as the ratio between the additive genetic and the phenotypic variances. The maternal and common environmental effect (c^2) was calculated as the ratio between the dam variance component and the phenotypic variance. The REML estimates of variance components, heritability and maternal common environmental effect are shown in table 5.

Table 5. Variance components, heritability and maternal common environment effect for LW^{0.5}

Parameter	REML Estimate
Additive genetic variance (σ^2_A)	2.6821
Maternal and common environment variance ($\sigma^2_D = \sigma_{M_{Ec}}^2$)	1.2012
Phenotypic variance (σ^2_p)	7.9559
Heritability (standard error) [h^2 (s.e.)]	0.34 (0.069)
Maternal common environment (standard error) [c^2 (s.e.)]	0.15 (0.031)

Estimation of response to selection from ASReml analyses

The progeny resulting from the 2002 spawning season were selected as parents of the next generation in two different ways, to create the Selection line, and to continue the Base Population as the Control line. Animal model breeding values were calculated for all individuals fitting a statistical model like the one described above, except that it did not include spawning season. The parents for the Selection line were selected from among those with the greatest breeding values for LW, imposing some restrictions with the aim of controlling inbreeding and maintaining a high effective population size. By contrast, the parents of the Control line were selected among those with breeding values for LW as close to the average as possible, and imposing the same sort of restrictions regarding inbreeding and population size as for the Selection line. We estimated the genetic change in LW in three ways: (i) Comparing the least squares means for the Selection and Control lines in the progeny of the 2003 spawning season; (ii) Comparing the estimated breeding values for LW between the progeny of the 2002 spawning season and those of the Selected line in the 2003 spawning season, and (iii) Comparing the estimated breeding values of the

Selection and Control lines in progeny of the 2003 spawning season. The results are shown in table 6 in which the model fitted in each case is also specified. Overall, there was good agreement among the methods, although the estimate from method (iii) was greater than for the other two methods. In all cases the response was large enough to suggest that genetic change was being achieved, and in the intended direction.

Discussion

General

The results reported in this paper are part of a long term project on the further genetic improvement of GIFT, and they represent an early stage in the development of improved Nile Tilapia. As such, they should not be viewed as definitive, but only as indicative of features that appear to begin emerging.

Environmental effects

We observed large variability in LW for both environments, cages and ponds. Note however, that this variability was within

Table 6. Response to selection in LW estimated by different methods

Method	Model (effects)	Selection Response (LW ^{0.5}) Percentage*
(i) Difference between the least squares means for LW for the Selection and the Control lines in the progeny of the 2003 spawning season	Fixed: SS, L, S, E, SSxS, LxS Covariate: age (SS, S, E)	8.4
(ii) Difference between the estimated breeding values for LW in the progeny of the 2002 spawning season and the estimated breeding values of the Selected line in the 2003 spawning season	Fixed: SSxSxE Covariate: Age (SS, S, E) Random: animal, dam	8.7
(iii) Difference between the estimated breeding values for LW of the Selection and the Control lines in the progeny of the 2003 spawning season.	Fixed: SSxSxE Covariate: Age (SS, S, E) Random: animal, dam	11.4

*Percentage refers to actual units, in relation to the least squares mean of LW^{0.5} for the whole population (14.7 g^{0.5}); actual units are LW^{0.5} difference in mean values for method (i) and difference in mean breeding values for methods (ii) and (iii).

the range reported in the literature for other aquatic species (GJEDREM, 2000; HALLERMAN, 2003), but it was greater than that reported for terrestrial domestic live-stock (Simm 1998, pp. 46-50).

Males were always heavier than females by about 16 per cent (table 5). In ponds there was some evidence of female reproduction at harvest time. This finding is consistent with other reports (LORENZEN, 2000) and lends support to the interest displayed by many researchers in the production of 'all male Tilapia' for grow-out operations (see review by PENMAN AND MCANDREW, 2000).

The greater weight in ponds than in cages is most likely, largely a reflection of the density of the fish in both environments and of the availability of natural food. In either case the density was chosen after surveying producers' practices in the region where the research station is located. The

results suggest that at such densities, and with the feeding regime and management adopted, the cage production system has the advantage of housing a large number of fish in a small area, but growth rates are likely to be lower than in ponds.

Genetic parameters

The history of the GIFT strain has been described by EKNATH and ACOSTA (1998) and by BENTSEN *et al.* (1998). At the time the fish were received in Malaysia the GIFT strain had undergone six generations of selection. Asking whether there was evidence of diminishing additive genetic variance and of a plateauing response to selection in such a population would be legitimate questions. The results of our study indicated that there was still additive genet-

ic variance for LW, the main focus of selection in the GIFT strain. Our heritability estimate (Table 6) was greater than that of GALL and BAKAR (2002), but it was in good agreement with those reported by KRONERT *et al.* (1989), and with the 'field environment' estimates of OLDORF *et al.* (1989). It was lower than the 'laboratory environment' estimates of the latter authors, and than those of BOLIVAR and NEWKIRK (2002).

Response to selection

Estimates of genetic gain per generation for aquatic animal species range from 10 to 20 per cent (GJEDREM, 2000). In our case we may conclude that response to selection in LW between the 2002 and 2003 spawning seasons was of the order of 10 per cent. This falls at the lower limit of the range reported by GJEDREM (2000). It is also slightly lower than the response estimated by GALL and BAKAR (2002), of 40 per cent in three generations. Our perception is that we could have achieved a greater response to selection if we had not suffered high (approx. 40 per cent) tag losses around harvest time. Tag losses caused a lower selection intensity and loss of the identity of many potentially valuable fish.

With regards to methodology, CHEN and BOICHARD (2003) and PILES and BLASCO (2003), working with poultry and rabbit data respectively, used an approach similar to ours in the estimation of response to selection. Overall, they found good agreement between the methods. In our case, the three methods used to estimate response to selection were also in reasonable agreement, and gave encouraging results. The agreement between methods (i) and (ii) was very good. Method (ii) gave a lower response than

method (iii) because the average estimated breeding value in the progeny resulting from the 2002 spawning season was greater by about three percent than that in the Control line in the 2003 spawning season. This suggests that there may have been a mild inadvertent selection for lower LW in the Control line. The lack of perfect agreement among different methods of estimation of selection response highlights the need to use alternative approaches to better interpret the results.

Conclusion

GIFT is an improved strain with proven growth potential (DEY *et al.*, 2000). Our results indicated that despite having undergone several generations of selection, the population still has additive genetic variance to enable further improvement. This contention is supported by the selection response observed (10 per cent) after one round of selection in Malaysia. The response could be greater if tag retention to the point of harvesting could be improved.

In the initial exploratory analyses we found a statistically significant sire by environment interaction. This finding was a reason for some concern but, as is well known, such findings are not informative in terms of explaining the reason for the result (ROBERTSON, 1959). In analyses conducted in addition to those reported here, we treated LW expressed in cage and in pond as different traits, examining the genotype by environment interaction with the genetic correlation approach, as indicated by ROBERTSON (1959). The variance component due to interaction (σ_{GE}^2) can be partitioned into its contributing factors as:

$$\sigma_{GE}^2 = [(\sigma_C - \sigma_P)^2 + 2\sigma_C\sigma_P(1 - r_g)] / 2$$

where r_g is the genetic correlation between the expressions in both environments, and σ_c and σ_p are the between animal standard deviations of breeding values in cage and pond environment, respectively. The equation shows that the two contributing factors to the variance component due to interaction are the difference between the genetic standard deviations between the environments (scale effect) and a non-unity genetic correlation. A non-unity genetic correlation always results in a variance component due to interaction, but the opposite is not true. A variance component due to interaction may exist in the presence of a unity genetic correlation between the expressions of the trait in both environments, due to a scale effect. In our case, the non-unity genetic correlation was the almost sole contributor to the variance component due to interaction.

FALCONER'S (1952) approach of treating the expression of the trait in different environments as if they were different traits is helpful in understanding and drawing practical conclusions from the results. In our case, the genetic correlation between LWC and LWP was 0.58, indicating that if selection were conducted in one of the environments, about 60 per cent of the gain that could be achieved in the other environment would be captured. Our estimate of the genetic correlation had a relatively large standard error, resulting in 95 per cent confident limits ranging from 0.32 to 0.84. We also found that selection response separately calculated in cage and in pond environments was of the same magnitude as when LW was treated as a single trait. We will again estimate the genetic correlation and selection responses after adding the data of another generation, currently being reared. In the meantime, we tentatively conclude that, despite finding a significant 'genotype by environment' interaction, there is not

enough evidence to justify the conduct of separate genetic improvement programs for cage and pond environments in Tilapia.

References

- BIENTSEN H.H., EKNATH A.E., PALADA-DE VERA M.S., DANTING J.C., BOLIVAR H.L., REYES R.A., DIONISIO E.E., LONGALONG F.M., CIRCA A.V., TAYAMEN M.M., GJERDE B., 1998. Genetic improvement of farmed tilapias: growth performance in a complete diallel cross experiment with eight strains of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 160, 145-173.
- BOLIVAR R.B., NEWKIRK G.F., 2002. Response to within family selection for body weight in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using a single-trait animal model. *Aquaculture* 204, 371-381.
- CHEN C.F., BOICHARD M.T., 2003. Estimation of genetic variability and selection response for clutch length in dwarf brown-egg layers carrying or not the naked neck gene. *Genet. Sel. Evol.* 35, 219-238.
- DEY M.M., EKNATH A.E., LI S., HUSSAIN M.G., TRAN M.T., NGUYEN V.H., AYPÄ S., PONGTHANA N., 2000. Performance and nature of genetically improved farmed tilapia: a bioeconomic analysis. *Aquaculture. Economics and Management* 4 (1 and 2), 83-106.
- EKNATH A.E., TAYAMEN M.M., PALADA-DE VERA M.S., DANTING J.C., REYES R.A., DIONISIO E.E., CAPILI J.B., BOLIVAR H.L., ABELLA T.A., CIRCA A.V., BIENTSEN H.B., GJERDE B., GJEDREM T., PULLIN R.S.V., 1993. Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in different farm environments. *Aquaculture* 111, 171-188.
- EKNATH A.E., ACOSTA B.O., 1998. Genetic Improvement of Farmed Tilapias (GIFT) Project: Final Report, March 1988 to December 1997. International Center for Living Aquatic Resources Management, Makati City, Philippines.
- FALCONER D.S., 1952. The problem of environment and selection. *Amer. Nat.*, 86, 293-298.
- GALL G.A.E., BAKAR Y., 2002. Application of mixed-model techniques to fish breed improvement: analysis of breeding-value selection to increase 98-day body weight in tilapia. *Aquaculture* 212, 93-113.

- GILMOUR A.R., GOGEL B.J., CULLIS B.R., WELHAM S.J., THOMPSON R., 2002. ASReml User Guide Release 1.0 VSN International Ltd, Hemel Hempstead, HPI 1ES, UK.
- GJEDREM T., 2000. Genetic improvement of cold-water species. *Aquaculture Research* 31, 25-33.
- HALLERMAN E.M., 2003. Quantitative genetics. In: Hallerman, E.M. (Ed.), *Population genetics: principles and applications for fisheries scientists*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA, pp. 261-287.
- KRONERT U., HORSTGEN-SCHWARK G., LANGHOLZ H.J., 1989. Prospects of selecting for late maturity in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) I. Family studies under laboratory conditions. *Aquaculture* 77, 113-121.
- LORENZEN K., 2000. In: *Tilapias: Biology and exploitation*, Chapter 6, Population dynamics and management. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 163-225.
- OLDORF W., KRONERT U., BALARIN J., HALLER R., HORSTGEN-SCHWARK G., LANGHOLZ H.J., 1989. Prospects of selecting for late maturity in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) II. Strain comparisons under laboratory and field conditions. *Aquaculture* 77, 123-133.
- PENMAN D.J., MCANDREW B.J., 2000. In: *Tilapias: Biology and exploitation*, Chapter 7, Genetics for the management and improvement of cultured tilapias. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 227-266.
- PILES M., BLASCO A., 2003. Response to selection for growth rate in rabbits estimated by using a control cryopreserved population. *World Rabbit Sci.* 11, 53-62.
- PONZONI R.W., HAMZAH A., TAN S., KAMARUZZAMAN N., 2004a. Genetic parameters and response to selection for live weight in the GIFT strain of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Submitted to *Aquaculture*.
- PONZONI R.W., HAMZAH A., KAMARUZZAMAN N., TAN S., 2004b. Live weight genetic parameters and response to selection in two production environments in the GIFT strain of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Submitted to *Aquaculture*.
- ROBERTSON A., 1959. The sampling variance of the genetic correlation coefficient. *Biometrics*, 15(3), 469-485.
- SAS Institute Inc., 1990. SAS/STAT[®] User's Guide, Version 6, Fourth Edition, Vols. 1 and 2, Cary, NC, USA.
- SAS Institute Inc., 1997. SAS/STAT[®] Software: Changes and Enhancements through Release 6.12, Cary, NC, USA.
- SIMM G., 1988. Genetic improvement of cattle and sheep. Farming Press, UK, 433 pp.
- WORLD FISH CENTER (2004). GIFT Technology Manual: An aid to Tilapia selective breeding. WorldFish Center, Penang, Malaysia, 56 pp.

TESTAJE DEL DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO POBLACIONAL VERSUS EL DESEQUILIBRIO DENTRO DE FAMILIAS UTILIZANDO FAMILIAS DE MEDIOS HERMANOS

L. Gómez Raya

Centre UdL –IRTA, Area de Produccio Animal, Av. Alcalde Rovira Roure, 177. 25198 Lleida. Spain

Introducción

En los últimos años se ha intensificado la búsqueda de QTL (del inglés Quantitative Trait Loci) utilizando marcadores moleculares. El primer paso consiste generalmente en realizar un barrido genómico en el que se detectan áreas del genoma en las que están segregando QTL. A continuación se realiza mapeo fino en el que se aumenta la densidad de marcadores y de genes candidatos en dichas áreas cromosómicas y se lleva a cabo una localización mas precisa de los QTL. En diseños de medios hermanas, que son frecuentes en especies domesticas comerciales como el vacuno lechero, es posible investigar el desequilibrio de ligamiento dentro de familias testando la segregación dentro de machos. Normalmente no es posible identificar el gen si hay varios genes candidatos muy ligados debido a que el fuerte desequilibrio dentro de familias impide discriminar entre ellos por la falta de meiosis informativas. En este estudio proponemos detectar el desequilibrio a nivel poblacional utilizando el alelo procedente de la madre. Estos alelos son muestras tomadas al azar de la población de madres y pueden servir para testar el desequilibrio poblacional. Si el gen candidato es la mutación causal misma entonces un fuerte desequilibrio de ligamiento poblacional se espera. Los objetivos de este trabajo son des-

arrollar métodos de máxima verosimilitud para testar el desequilibrio dentro familias y poblacional y para comparar ambos desequilibrios. Este método proporciona información para comparar genes candidatos respecto al desequilibrio de ligamiento dentro de familias y poblacional en zonas cromosómicas donde se han detectado QTL.

Teoría

Métodos de máxima verosimilitud pueden utilizarse para estimar los efectos asociados a los alelos heredados por vía paterna y materna. Por simplicidad asumimos que el carácter se distribuye normalmente, la varianza es la misma para todos los genotipos y que el gen es aditivo. También se asume que el gen es candidato y dialélico en el que uno de los alelos esta asociado a producción en un estudio previo en el que se detectaron QTL en esa zona cromosómica. En la figura 1 se muestra un esquema de las contribuciones de machos y hembras a la descendencia así como las frecuencias esperadas de cada genotipo y su valor esperado. En el esquema, el primer alelo se hereda del padre (subíndice S) y el segundo de la madre (subíndice D). Los genotipos de los heterocigotos $A_{SA} a_{Da}$ y $a_{Sa} A_{DA}$ no pue-

den distinguirse sin información adicional que podría obtenerse con marcadores en la proximidad de dicho locus.

Para la descendencia j de padre i y con genotipo $G_0 = Aa$, la verosimilitud es:

$$\begin{aligned} L_{ij}(x_{ij}, \alpha_{SA}, \alpha_{DA}, \alpha_{Sa}, \alpha_{Da} | G_0 = Aa, G_s) = \\ p_{ij}(G_0 = A_{SA} a_{Da} | G_s, f_A) z_{ij1} + \\ p_{ij}(G_0 = a_{SA} A_{Da} | G_s, f_A) z_{ij2} \\ = \frac{1}{2} f_a z_{ij1} + \frac{1}{2} f_A z_{ij2} \end{aligned}$$

where

$$z_{ij1}(x, \mu_{j1}, \sigma^2) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu_{j1})^2}{2\sigma^2}} \quad \text{and}$$

$$z_{ij2}(x, \mu_{j2}, \sigma^2) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu_{j2})^2}{2\sigma^2}}$$

con $\mu_{j1} = \alpha_{SA} + \alpha_{Da}$ and $\mu_{j2} = \alpha_{Sa} + \alpha_{DA}$.

Las verosimilitudes de descendencia de padre i y con genotipo $G_0 = AA$ y $G_0 = aa$ son:

$$L_{ij}(x_{ij}, \alpha_{SA}, \alpha_{DA}, \alpha_{Sa}, \alpha_{Da} | G_0 = AA, G_s) = z_{ij3},$$

$$L_{ij}(x_{ij}, \alpha_{SA}, \alpha_{DA}, \alpha_{Sa}, \alpha_{Da} | G_0 = aa, G_s) = z_{ij4},$$

respectivamente. Las medias de estas distribuciones normales $\mu_{j3} = \alpha_{SA} + \alpha_{DA}$ and $\mu_{j4} = \alpha_{Sa} + \alpha_{Da}$.

La verosimilitud conjunta para toda la descendencia n de cada uno de los nb machos es:

$$L(\alpha_{SA}, \alpha_{Sa}, \alpha_{DA}, \alpha_{Da}, \sigma^2) = \prod_{j=1}^{nb} \prod_{i=1}^n L_{ij}$$

El testaje del desequilibrio de ligamiento poblacional versus dentro de familias se puede llevar a cabo mediante LRT (del inglés Likelihood Ratio Statistics): $LRT \sim -2 \ln(\max L_{ho} / \max L_{ha})$, donde $\max L_{ho}$ es la verosimilitud de la hipótesis nula ($\alpha_{SA} = \alpha_{DA}$; $\alpha_{Sa} = \alpha_{Da}$) y $\max L_{ha}$ es la verosimilitud del modelo sin restricciones en los parámetros a estimar ($\alpha_{SA} \neq \alpha_{DA}$; $\alpha_{Sa} \neq \alpha_{Da}$). LRT se distribuye como una χ^2 con $2nb$ grados de libertad.

A/a A, a			
↓ ↙		Prob	Valor esperado
A _{SA} A _{DA}		1/2 f _A	$\alpha_{SA} + \alpha_{DA}$
A _{SA} a _{Da}		1/2 f _a	$\alpha_{SA} + \alpha_{Da}$
a _{Sa} A _{DA}		1/2 f _A	$\alpha_{Sa} + \alpha_{DA}$
a _{Sa} a _{Da}		1/2 f _a	$\alpha_{Sa} + \alpha_{Da}$

Figura 1. Esquema de las contribuciones de un macho heterocigoto y de las hembras a la descendencia en familias de medios hermanos. Prob. es la frecuencia del genotipo correspondiente. Valor esperado es la media de cada genotipo. f_i = frecuencia del alelo i en la población de hembras.

Discusión

En este estudio se propone comparar los desequilibrios poblacional y dentro de familias para genes candidatos en zonas cromosómicas donde se han detectado QTL. Si el test propuesto (LRT) es significativo entonces indicaría que los desequilibrios de ligamiento son diferentes. Lo cual implicaría que el gen candidato testado es un marcador pero no la mutación causal. Este test podría ser significativo también si existe imprinting sexual.

De la observación de las formulas para escribir la verosimilitud se deduce que si la frecuencia del gen candidato es 0.5 entonces el método no puede discriminar entre los

dos desequilibrios. La potencia estadística se debe calcular para una variedad de escenarios con frecuencias alélicas diferentes.

En la práctica se puede incluir marcadores moleculares en la proximidad del gen candidato que se quiere testar con el fin de identificar el origen paterno o materno de alelos en los heterocigotos ($A_{SA} a_{Da}$ y $a_{Sa} A_{DA}$) y de esta manera incrementar la potencia estadística del método.

Agradecimientos

Esta investigación se ha financiado por el MCYT de España a través del proyecto AGL2002-04271-C03-02

MÉTODOS DE COMPARACIÓN DE MODELOS: UN ESTUDIO DE SIMULACIÓN

L.Varona

Area de Producció Animal. Centre UdL-IRTA. 25198. Lleida.

Introducción

En mejora genética animal, la comparación de modelos es una herramienta clave tanto en los procedimientos de valoración de reproductores, como en las técnicas estadísticas ligadas a la genética molecular (detección de QTL, estudios de asociación o análisis de datos de expresión génica).

La aproximación clásica al contraste de hipótesis en modelos jerarquizados se resuelve mediante el contraste del cociente de verosimilitudes (LRT). Asintóticamente, y siempre que la hipótesis nula sea cierta, $-2 \ln \text{LRT}$ se distribuye como una Chi-cuadrado con tantos grados de libertad como diferencia exista entre el número de parámetros de ambos modelos.

Desde una perspectiva bayesiana, la comparación entre modelos se resuelve mediante el cálculo de la probabilidad posterior de cada modelo dados los datos $-p(M_i|y)-$. Este procedimiento no tiene ningún requisito de jerarquía entre los modelos candidatos, y se presenta como un criterio claro y medible.

En general:

$$\frac{p(M_1|y)}{p(M_2|y)} = \frac{p(y|M_1)}{p(y|M_2)} \frac{p(M_1)}{p(M_2)}$$

donde $\frac{p(M_1|y)}{p(M_2|y)}$ es el cociente entre las

probabilidades posteriores de los modelos candidatos, $\frac{p(y|M_1)}{p(y|M_2)}$ es el factor de Bayes entre ambos modelos, y $\frac{p(M_1)}{p(M_2)}$ es el cociente entre las probabilidades a priori.

Por lo tanto, el Factor de Bayes (BF) puede considerarse el criterio de comparación entre modelos si se asume igual probabilidad a-priori para los dos modelos candidatos. Sin embargo, el cálculo de la probabilidad marginal de los datos $p(y|M_i)$, imprescindible para el Factor de Bayes, implica la integración a lo largo de todos los parámetros del modelo:

$$p(y|M_1) = \int p(y|M_1, \theta_1) p(\theta_1|M_1) d\theta_1$$

Esta integración no es sencilla en modelos complejos, y, además, es claramente dependiente de estas distribuciones a-priori (SORENSEN y GIANOLA, 2002), que en muchas ocasiones están definida de manera vaga.

Como solución a este problema se han presentado múltiples alternativas, tanto analíticas como numéricas. En este trabajo se pretende comparar algunos de estos procedimientos en el marco de un modelo padre de componentes de varianza.

Simulación

Se han simulado poblaciones consistentes en 10, 30 y 50 machos con 10 hijos con registros fenotípicos (100, 300 y 500 registros fenotípicos, respectivamente). Cada una de estas poblaciones se simuló con heredabilidades de 0.00, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 y 0.50. Para cada combinación de tamaño de población y heredabilidad se generaron 1000 réplicas. La media y la varianza poblacional se asumieron conocidas y fijadas en 100.

Métodos

Los modelos a comparar fueron, en todos los casos de simulación, un modelo con $h^2=0$ – M_1 – y un modelo con $h^2>0$ – M_2 –. Se han utilizados los siguientes procedimientos:

1. Contraste de cociente de verosimilitudes –LRT– (PEÑA, 1995).

$$-2 \ln \frac{L(\mathbf{y}|\hat{h}^2)}{L(\mathbf{y}|h^2=0)} \sim \chi_1^2$$

Se han calculado el porcentaje de réplicas que superan los umbrales al 5 y al 1%.

2. Factor de Bayes (Aproximación para modelos jerárquicos) –HMBF– (GARCÍA-CORTÉS *et al.*, 2001; VARONA *et al.*, 2001).

$$BF = \frac{p(h^2=0|M_2)}{p(h^2=0|y, M_2)}$$

3. Factor de Bayes (Aproximación la media armónica) –NRBF–, (NEWTON y RAFTERY, 1994).

$$NRBF = \frac{p(y|M_1)}{p(y|M_2)}$$

$$p(y|M_2) \equiv \frac{n}{\sum_{i=1}^n \frac{1}{p(y|h_i^2, M_2)}}$$

donde h_i^2 son muestras obtenidas al azar de la distribución posterior $p(h^2|y, M_2)$

4. Factor de Bayes Posterior –PBF– (AITKIN, 1991).

$$PBF = \frac{p_1(y|M_1)}{\int p_2(y|h^2, M_2) p_2(h^2|y, M_2) d\theta}$$

5. Akaike Information Criterium –AIC– (AKAIKE, 1973). El modelo con un AIC inferior es seleccionado.

$$AIC_2 = -2 \log \left\{ p(y|\hat{h}^2) \right\} + 2$$

6. Bayesian Information Criterium –BIC– (SWARTZ, 1978). Se selecciona el modelo con un BIC inferior.

$$BIC_2 = -2 \log \left\{ p(y|\hat{h}^2) \right\} + \log(n)$$

donde n es el numero de observaciones.

7. Deviance Information Criterium –DIC– (SPIEGELHALTER *et al.*, 2002).

$$DIC = \bar{D}(h_i^2) + p_d$$

donde $\bar{D}(M)$ es la devianza

$$(-2 \log \left\{ p(y|h_i^2) \right\})$$

media de las observaciones de la distribución posterior (h^2_i) obtenida mediante MCMC, y

$$p_d = \overline{D(h^2_i)} - D(\hat{h}^2)$$

es la diferencia entre la devianza media de las observaciones de la distribución posterior y devianza observada en la media posterior de h^2 . Por otra parte, p_d se puede entender como el número efectivo de parámetros del modelo.

Resultados y discusión

En los cuadros 1, 2 y 3 se presentan los resultados de la simulación. En los casos donde se simuló una heredabilidad nula, el LRT produjo una cantidad de falsos positivos similar al error de tipo I asumido, y, como era esperable, independiente del tamaño de muestra.

Por el contrario, en los procedimientos asociados con el Factor de Bayes (HMBF y NRBF), el porcentaje de falsos positivos se

Cuadro 1. Porcentaje de réplicas que seleccionan el modelo complejo ($h^2>0$) en el primer caso de simulación ($n = 100$)

h^2	LRT 5%	LRT 1%	HMBF	NRBF	AIC	BIC	DIC	PBF
0.00	4.5	0.9	14.3	14.3	7.8	1.2	13.0	20.3
0.10	7.1	2.3	27.9	27.8	17.2	4.9	26.7	35.8
0.20	15.4	5.7	45.8	45.8	32.5	11.3	43.1	53.8
0.30	28.4	14.6	61.4	61.4	45.7	23.1	59.4	69.4
0.40	38.1	21.9	69.6	69.4	55.4	32.5	67.3	76.4
0.50	48.5	29.6	79.2	79.3	68.0	41.3	77.2	83.3

Cuadro 2. Porcentaje de réplicas que seleccionan el modelo complejo ($h^2>0$) en el segundo caso de simulación ($n = 300$)

h^2	LRT 5%	LRT 1%	HMBF	NRBF	AIC	BIC	DIC	PBF
0.00	5.4	1.2	6.9	6.9	6.4	0.8	8.6	19.0
0.10	13.8	3.7	25.9	25.8	26.8	5.7	34.1	48.1
0.20	38.2	20.7	56.4	56.4	56.3	25.8	61.2	75.0
0.30	59.4	38.9	76.8	77.5	77.7	44.5	83.5	92.2
0.40	80.1	62.9	89.6	90.1	89.6	68.5	92.2	96.4
0.50	91.8	81.0	96.6	96.5	96.5	84.9	97.4	99.4

Cuadro 3. Porcentaje de réplicas que seleccionan el modelo complejo ($h^2>0$) en el segundo caso de simulación ($n = 500$)

h^2	LRT 5%	LRT 1%	HMBF	NRBF	AIC	BIC	DIC	PBF
0.00	4.8	1.1	4.5	6.1	7.1	0.4	9.0	19.2
0.10	19.6	8.3	28.1	30.8	34.4	9.4	40.3	60.4
0.20	54.4	33.3	65.9	67.3	71.7	35.7	76.3	87.4
0.30	79.7	61.4	87.0	88.3	89.8	63.9	92.3	96.7
0.40	94.8	86.3	96.6	96.9	97.5	88.2	98.4	99.2
0.50	98.3	95.3	99.2	99.2	99.3	96.1	99.5	100.

redujo a medida que el tamaño de población aumento. Los otros procedimientos aproximados (AIC, BIC, DIC y PBF) mantuvieron un porcentaje similar de falsos positivos, aún cuando se incremento este tamaño. El BIC se mostró como el procedimiento más conservador y el PBF como el más arriesgado a la hora de elegir el modelo complejo.

En cuanto a la potencia empírica de los contrastes, el PBF fue el procedimiento que selecciono en mayor número de ocasiones el modelo complejo, mientras que el BIC fue, de nuevo, el más conservador. El DIC y el AIC produjeron resultados similares a los estimadores del factor de Bayes (HMBF y NRBF). Todos los procedimientos con excepción del BIC obtuvieron resultados superiores a los procedimientos basados directamente en el cociente de verosimilitudes (LRT).

Bibliografía

AITKIN M., 1991. Posterior Bayes Factor (with discussion). J. R. Statist. Soc. B. 53:111-142.

AKAIKE H., 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle, in Proceedings 2nd.

GARCÍA-CORTÉS L.A., CABRILLO C., MORENO C., VARONA L. 2001. Hypothesis testing for the genetic background on quantitative traits. Genet. Sel. Evol. 33: 3-16.

KASS R.E., RAFTERY A.E. Bayes Factors. J. A. S. A. 90:773-795.

NEWTON M.A., RAFTERY A.E., 1994. Approximate Bayesian inference with the weighted likelihood bootstrap. J. Royal Statistical Society B 56: 3-48.

SCHWARTZ G., 1978. Estimating the dimension of a model. Annals of Statistics 6: 461-464.

SORENSEN D., GIANOLA D., 2002. Likelihood, Bayesian, and MCMC Methods in Quantitative Genetics. Springer-Verlag.

SPIEGELHALTER D.J., BEST N.G., CARLIN B.P., VAN DER LINDE A., 2002. Bayesian measures of model complexity and fit. J. Royal Statistical Society B 64: 583-639.

VARONA L., GARCÍA-CORTÉS L.A., PÉREZ-ENCISO M., 2001. Bayes Factor for detection of Quantitative Trait Loci. Genet. Sel. Evol. 33: 133-152.

ANÁLISIS DE LOS GENES CANDIDATOS DE LA OVIDUCTINA, UTEROGLOBINA Y RECEPTOR DE PROGESTERONA EN DOS LÍNEAS DIVERGENTES SELECCIONADAS POR CAPACIDAD UTERINA EN CONEJO

M. Merchán*, R. Peiró**, J. Estellé*, Y. Sastre*,
M.A. Santacreu**, J.M. Folch*

* Unitat de Genètica i Millora Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària, UAB. 08193 Bellaterra

** Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica de Valencia, P.O. Box 22012, 46071 Valencia

RESUMEN

En el presente trabajo se ha analizado la existencia de polimorfismos en los genes candidatos de la uteroglobina, de la oviductina y del receptor de la progesterona en dos líneas divergentes seleccionadas por capacidad uterina en conejo. En el gen de la uteroglobina se han detectado 6 posiciones polimórficas en la región promotora pero no se observa relación entre los genotipos de estas variantes polimórficas y la clasificación de los animales de alta y baja capacidad uterina. En el receptor de la progesterona se han detectado 5 posiciones polimórficas y parece haber una cierta relación entre algunos de estos genotipos y la clasificación de los animales en ambas líneas. En la oviductina se han detectado 11 posiciones polimórficas determinando 3 de éstas 2 cambios aminoacídicos. Se ha observado un haplotipo más frecuente en los animales de la línea alta que en los de la línea baja. Los animales analizados son los parentales que se utilizarán para producir un cruce F2 en el que se analizarán las variantes detectadas en el gen de la oviductina y del receptor de la progesterona para comprobar si existe alguna asociación entre dichas variantes y la capacidad uterina.

Introducción

El conejo es un animal de interés productivo y particularmente adecuado como modelo en experimentos de selección que no serían factibles en otras especies ganaderas. En la producción de conejo, al igual que en porcino, el carácter tamaño de camada es uno de los que tiene más repercusión productiva y económica.

En el Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia se ha llevado a cabo un experimento de selección divergente por capacidad uterina (ARGENTE *et al.*, 1997). La selección por capacidad uterina ha tenido éxito, la divergencia entre las líneas fue de 2.6 gazapos al nacimiento (BLASCO *et al.*, 2000). La mayor respuesta se ha presentado en la línea seleccionada para disminuir la capacidad uterina, 2.1 gazapos menos al nacimiento que la

población control; el menor tamaño de camada en esta línea se debe esencialmente a un aumento de la mortalidad embrionaria hasta el momento de la implantación (SANTACREU *et al.* 2000). MOCÉ *et al.* (2004) encuentran que la mayor parte de la mortalidad pre-implantación se produce antes de las 72 horas de la gestación, cuando los embriones todavía se encuentran en el oviducto. La mitad de la respuesta estimada en capacidad uterina se produjo en las dos primeras generaciones de selección. ARGENTE *et al.* (2003) han encontrado evidencias de la existencia de un QTL con un efecto importante sobre la capacidad uterina y el número de embriones implantados en la generación base.

El presente trabajo de investigación se enmarca en el proyecto AGL2001-3068-C03 que pretende la identificación del gen mayor responsable de las diferencias en supervivencia embrionaria observadas en las líneas indicadas anteriormente. Se van a estudiar tres genes candidatos: uteroglobina, receptor de la progesterona y oviductina. La uteroglobina es el principal componente proteico (40-60%) de la secreción uterina durante la implantación y está implicada en el transporte de progesterona, en la protección del blastocito contra la respuesta inmunitaria materna y tiene una actividad anti-inflamatoria (BEIER, 2000; GUTIÉRREZ-SAGAL *et al.*, 1993). El gen del receptor de la progesterona está relacionado con la liberación del ovocito maduro, la implantación del embrión, el mantenimiento de la gestación y el crecimiento uterino (GUTIÉRREZ-SAGAL *et al.*, 1993). Además, induce la expresión y la liberación de la uteroglobina. El gen de la oviductina en conejo se expresa específicamente en el oviducto y en el cérvix (HENDRICK *et al.*, 2001) y está implicado en la fecundación, en el desarrollo embrionario temprano y en la pro-

tección del epitelio oviductal (BUHI *et al.*, 2002).

Material y métodos

Los animales proceden de un experimento de selección por capacidad uterina descrito por ARGENTE *et al.* (1997). La selección se llevó a cabo durante diez generaciones y posteriormente se relajó hasta la generación 17. Se han utilizado un total de 21 animales de la generación 17: 6 hembras y 2 machos de la línea seleccionada por alta capacidad uterina (CU+) y 11 hembras y 2 machos de la línea seleccionada para disminuir la capacidad uterina (CU-). Estos animales son los parentales de los cruces para producir una F2, en la que se analizarán los posibles genes candidatos que regulan la capacidad uterina.

El análisis de los diferentes genes se realizó partiendo de ADN genómico extraído de muestras de 100 mg de oreja y/o de ARN total extraído de muestras de 100 mg de tejido oviductal. Se diseñaron cebadores a partir de las secuencias publicadas de conejo en el *GenBank* de cada uno de los genes candidatos (receptor de progesterona: X06623 y M14547; uteroglobina: X01423; oviductina: AF347052). Se amplificaron por PCR y/o RT-PCR extensas regiones de los 3 genes. Los productos amplificados fueron purificados y posteriormente secuenciados con el kit *Big Dye*® *Terminator v.3.1 Cycle Sequencing* en el secuenciador automático *ABI PRISM 3100 Avant* (Applied Biosystems). Las secuencias fueron ensambladas y alineadas mediante el programa *SeqScape*™ (Applied Biosystems) para la detección de polimorfismos.

Resultados y discusión

Uteroglobina

Se ha amplificado mediante PCR un fragmento del gen de 3703 pb del que se ha obtenido una secuencia de 485 pb de la región promotora, de todos los exones (E1, E2 y E3), parcialmente de los intrones y de 145 pb de la región 3' flanqueante. En el análisis de todos los animales parentales se han detectado un total de 30 posiciones polimórficas con respecto a la secuencia publicada en el GenBank (X01423) que consisten mayoritariamente en sustituciones nucleotídicas, aunque también existen inserciones y deleciones de 1 ó 3 nucleótidos. Once de estas variantes están localizadas en el promotor, una en el intrón 1, dos en el exón 2, quince en el intrón 2 y una en la región 3' flanqueante. Sin embargo, sólo seis de estas posiciones son polimórficas entre los animales analizados y se localizan en la región promotora del gen. Estos polimorfismos se han encontrado sólo en 4 de los 21 animales parentales y no están asociados a ninguna de las dos líneas estudiadas.

Receptor de progesterona

Se han amplificado por PCR 2 fragmentos solapados del gen de 700 y 1759 pb y mediante RT-PCR un fragmento del ARNm de 1245 pb. Se ha obtenido la secuencia de 447 pb del promotor, 698 pb de la región 5' UTR, toda la región codificante (excepto parte del exón 1) y 58 pb de la región 3' UTR. El promotor y la región 5' UTR han sido secuenciados en todos los animales parentales, la región codificante y la región 5' UTR sólo han sido secuenciadas en las hembras parentales. Solamente se han encontrado 5 posiciones polimórficas entre

los animales analizados, una en el promotor, tres en la región 5'UTR del exón 1 y una en la región codificante del exón 7 (sustitución silenciosa). En los machos CU+ se ha observado un haplotipo diferente al de los machos CU-, sin embargo, en las hembras esta asociación no es tan evidente.

Oviductina

Se ha amplificado mediante RT-PCR un fragmento del ARNm de 1528 pb del que se ha obtenido una secuencia de 1372 pb de la región codificante y 31 pb de la región 3' UTR en las hembras parentales. Se han amplificado mediante PCR dos fragmentos solapados del gen de unas 6 y 8 kb en los machos parentales. Estos 2 fragmentos han sido parcialmente secuenciados.

Se han encontrado 11 posiciones polimórficas entre los animales analizados. Una posición está localizada en la región 3'UTR del exón 11. Las otras 10 posiciones restantes están localizadas en la región codificante; dos en el exón 3, dos en el exón 6, una en el exón 8 y cinco en la región codificante del exón 11. Tres de estas cinco variantes localizadas en el exón 11 implican un cambio aminoacídico, mientras que el resto de las variantes detectadas son silenciosas. Se ha observado un haplotipo de estas tres variantes más frecuente en los animales de la línea CU+ (frecuencia del haplotipo $p = 0.88$) que en los de la línea CU- ($p = 0.35$). Los resultados previos muestran que la mayor parte de la diferencia en tamaño de camada entre las líneas CU+ y CU-, se debe a una diferente tasa de supervivencia hasta las 72 horas de gestación (Mocé *et al.*, 2004). La expresión de este gen en oviducto, lugar en el que se localiza el embrión a las 72 horas de la gestación, refuerza el interés de estos polimorfismos.

Las variantes encontradas en los genes del receptor de progesterona y de la oviductina serán analizadas en las hembras F2 para poder realizar estudios de asociación con parámetros reproductivos.

Agradecimientos

Trabajo financiado con el proyecto MCYT (AGL2001-3068-C03-03) y con una beca FPI a M. Merchan (MCYT) y a R. Peiró (OCYT).

Bibliografía

- ARGENTE M.J., SANTACREU M.A., CLIMENT A., BOLET G., BLASCO A., 1997. Divergent Selection for Uterine Capacity in Rabbits. *J. Anim. Sci.* 75: 2350-2354.
- ARGENTE M.J., BLASCO A., ORTEGA J.A., HALEY C.S., VISSCHER P.M., 2003. Analyses for the presence of a major gene affecting uterine capacity in unilaterally ovariectomized does. *Genetics* 163: 1061-1068.
- BEIER H.M., 2000. The Discovery of Uteroglobin and its Significance for Reproductive Biology and Endocrinology. *Annals of the New York Academy of Sciences* 923: 9-24.
- BLASCO A., ORTEGA J.A., SANTACREU M.A., 2000. Selection for uterine capacity. I Genetic trends and correlated response in components of litter size. *7th World Rabbit Congress A*: 347-352.
- BUHI W.C., 2002. Characterization and biological roles of oviduct-specific, oestrogen-dependent glycoprotein. *Reproduction* 123: 355-362.
- GUTIÉRREZ-SAGAL R., PÉREZ-PALACIOS G., LANGLEY E., PASAPERA A.M., CASTRO I., CERBÓN M.A., 1993. Endometrial Expression of Progesterone Receptor and Uteroglobin Genes During Early Pregnancy in the Rabbit. *Molecular Reproduction and Development* 34: 244-249.
- HENDRIX E., HEWETSON A., MANSHARAMANI M., CHILTON B.S., 2001. Oviductin (Muc 9) is Expressed in Rabbit Endocervix. *Endocrinology* Vol. 142, Nº 5: 2151-2154.
- MOCE M.L., SANTACREU M.A., CLIMENT A., BLASCO A., 2004. The effect of divergent selection for uterine capacity on prenatal survival in rabbits: Maternal and embryonic genetic effects. *J. Anim. Sci.* 82: 68-73.
- SANTACREU M.A., ARGENTE M.J., MOCE M.L., BLASCO A., 2000. Selection for uterine capacity. II Response to selection estimated with a cryopreserved control population. *7th World Rabbit Congress A*: 491-496.

PARÁMETROS GENÉTICOS DE LA FERTILIDAD EN DOS LÍNEAS DE CONEJO DE DIFERENTE APTITUD

M. Piles*, O. Rafel*, J. Ramon*, L. Varona**

* IRTA – Unitat de Cunicultura, Torre Marimón s/n., 08140 Caldes de Montbui, Barcelona

** Area de Producció Animal, Centre UDL – IRTA, C/ Rovira Roure 177, 25198 Lleida

Introducción

En producción de carne de conejo, la eficacia de la producción y el rendimiento económico de las explotaciones depende en gran parte del éxito reproductivo, el cual está condicionado a la fertilidad y al tamaño de camada. La fertilidad puede ser considerada un carácter de la hembra, del macho o de ambos. Depende de un gran número de factores ambientales y genéticos. En otras especies, diversos autores han mostrado que existe poca, casi nula, variación genética en la fertilidad (en vacuno: JANSEN, 1986; SÉLLER and RON, 1992; BOICHARD y MANFREDI, 1994; WEIGEL y REKAYA, 2000; en porcino: VARONA y NOGUERA, 2001) pero en conejo, la información publicada en la literatura acerca de los componentes de varianza de este carácter es muy limitada. Únicamente existen tres trabajos referentes a la repetibilidad (BLASCO *et al.*, 1979) y heredabilidad (KHALIL and SOLIMAN, 1989; MOURA *et al.*, 2001) de la fertilidad de la hembra medida como número de presentaciones al macho y ninguno en relación con la fertilidad del macho. Hasta el momento, los esfuerzos de la selección se han centrado en el tamaño de camada y únicamente se practica una selec-

ción de baja intensidad con respecto a este carácter eliminando individuos estériles.

La fertilidad del macho podría tener interés económico ya que un macho puede influir en el éxito a la cubrición de un gran número de hembras, especialmente cuando se practica inseminación artificial. Podría ser mejorada por selección directa o indirecta a través de alguno de sus componentes como son los parámetros que definen la calidad seminal. Desde el punto de vista de la mejora genética, el conocimiento de los componentes de varianza de la fertilidad del macho y de la hembra y de su relación genética es gran importancia para evaluar futuras estrategias de selección.

La fertilidad puede ser estudiada como un carácter continuo (tasa de gestación, número de presentaciones al macho) o un carácter discreto de expresión binaria (éxito o fracaso en la cubrición o al parto). El modelo umbral postula que la respuesta binaria está relacionada con una variable subyacente normal y con un umbral fijo que divide la escala continua en dos intervalos que delimitan las dos categorías de respuesta (WRIGHT, 1934). Así, si la variable subyacente excede el umbral la observación pertenecerá a la segunda clase. Los procedimientos desarrollados por SORENSSEN y col.

(1995) y MORENO y col. (1997) basados en métodos de Monte Carlo permiten el análisis de caracteres categóricos bajo este modelo. VARONA y col. (1999) desarrollaron modelos que permiten incluir en el análisis caracteres continuos correlacionados.

El objetivo de este trabajo fue estimar los componentes de varianza de la fertilidad del macho y de la hembra definida como éxito o fracaso en la cubrición, así como la relación genética entre ambos, en dos poblaciones de conejo de diferente potencial reproductivo.

Material y métodos

Los animales pertenecen a las líneas C y P, seleccionadas por velocidad de crecimiento y tamaño de camada al destete respectivamente (RAFEL y col, 1998). Se encontraban alojados en las dos granjas del Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries, en las que se sigue un mismo sistema de producción. Las hembras seguían un ritmo reproductivo semi-intensivo: primera cubrición a los 4 meses y medio de vida y, ciclos reproductivos de 42 días. Los machos comenzaban su etapa reproductiva a los 6 meses de edad. Las cubriciones se realizaban mediante monta natural. El diagnóstico de gestación se realizaba por palpación abdominal 14 días después de la cubrición. El valor asignado a la fertilidad era 1 si la coneja estaba gestante y 0 en caso contrario. Se dispuso de 20.793 datos (16.740 palpaciones positivas, 80.5%) en la línea C desde 1.983 hasta 2.003 y de 17.548 datos (15.134 palpaciones positivas, 86.2%) en la línea P desde 1.993 hasta 2.003. Los datos correspondían a 5.388 y 3.848 hembras y 1.021 y 685 machos de las líneas C y P respectivamente. El pedigrí incluía 6.409

y 4.533 individuos de las líneas C y P respectivamente. Los datos fueron analizados separadamente para cada una de las líneas.

El modelo asumido para la variable subyacente (l) era:

$$l = X\beta + Z_1u_m + Z_2u_f + Z_3p_m + Z_4p_f + e$$

Donde β es el vector de efectos sistemáticos, u_m y u_f son los vectores de efectos genéticos aditivos de macho y de hembra respectivamente, p_m y p_f son los vectores de efectos ambientales permanentes de macho y de hembra, e es el vector de residuos aleatorios y X , Z_1 , Z_2 , Z_3 y Z_4 son matrices de incidencia que relacionan la variable subyacente con los efectos sistemáticos, genéticos y ambientales de tipo permanente. Los efectos sistemáticos incluidos en el modelo fueron: i) el estado fisiológico de la hembra (phs), con tres niveles: 1 para hembras núlparas, 2 para hembras múltiparas lactantes en el momento de la cubrición y 3 para hembras múltiparas no lactantes el día de cubrición, ii) el año-estación.(ys), definido en intervalos de 6 meses (desde abril a septiembre y desde octubre a Marzo) entre noviembre de 1983 a junio 2003 en la línea C y entre julio 1992 y noviembre de 2003 en la línea P.

Dados β , u_m , u_f , p_m y p_f , los elementos del vector l son condicionalmente independientes y se distribuyen como:

$$l|\beta, u_m, u_f, p_m, p_f, \sigma_e^2 \sim N(X\beta + Z_1u_m + Z_2u_f + Z_3p_m + Z_4p_f, I\sigma_e^2)$$

siendo σ_e^2 la varianza residual (fijada a 1).

Las observaciones (éxito o fracaso a la cubrición) son condicionalmente independientes dados β , u_m , u_f , p_m y p_f . Por tanto, la distribución condicional de los datos dados los parámetros se puede escribir, siguiendo a SORESENSEN y col., (1995), como:

$$p(y|\beta, u_m, u_f, p_m, p_f, l, G) = \prod_{i=1}^n \{I(l_i > 0) \\ I(y_i = 1) + I(l_i \leq 0)I(y_i = 0)\}$$

donde $y = \{y_i\}$ ($i=1, 2, \dots, n$) denota el vector de observaciones y $I(y_i = j)$ es una función indicadora que toma el valor de 1 si la respuesta pertenece a la categoría j y 0 en caso contrario.

Se adoptó la metodología bayesiana para la inferencia. La distribución posterior conjunta de todos los parámetros fue:

$$p(\beta, u_m, u_f, p_m, p_f, l, G|y) \propto \\ p(l|\beta, u_m, u_f, p_m, p_f)p(u_m, u_f|G)p(G) \\ p(p_m|\sigma_m^2)p(\sigma_m^2)p(p_f|\sigma_f^2)p(\sigma_f^2) \times \\ p \prod_{i=1}^n \{I(l_i > 0)I(y_i = 1) + I(l_i \leq 0) \\ I(y_i = 0)\}$$

con las siguientes distribuciones a priori de los parámetros: $p(\beta) \sim U(-5, 5)$, $p(u_m, u_f|G) \sim N(0, A \otimes G)$, $p(p_m|\sigma_m^2) \sim N(0, I\sigma_m^2)$, $p(p_f|\sigma_f^2) \sim N(0, I\sigma_f^2)$, donde A es la matriz de relaciones de parentesco, G es la matriz de componentes de (co)varianza y σ_m^2 y σ_f^2 son las varianzas de efectos ambientales permanentes de macho y de hembra respectivamente. Las distribuciones a priori utilizadas en el análisis para G , σ_m^2 y σ_f^2 fueron propias y poco informativas: $p(G) \sim IW(S_g, 5)$, $p(\sigma_m^2) \sim \chi^2(s_m, 5)$, $p(\sigma_f^2) \sim \chi^2(s_f, 5)$, con

$$s_m = 0.1, s_f = 0.1 \text{ y } S_g = \begin{bmatrix} 0.1 & 0 \\ 0 & 0.1 \end{bmatrix}$$

Las distribuciones condicionales de cada uno de los parámetros del modelo necesarias para la implementación del algoritmo de muestreo de Gibbs, utilizado para aproximar las distribuciones marginales posteriores de las variables de interés, han sido derivadas para el modelo usado aquí por SORENSEN y col., (1995). Para cada uno de los análisis se obtuvieron dos cadenas de 2.000.000 de iteraciones. Las primeras

250.000 iteraciones de cada una de ellas fueron desechadas, y 1 de cada 5 muestras de los parámetros de interés fueron guardadas. La varianza de muestreo de las cadenas fue obtenido calculando el error de Monte Carlo (GEYER, 1992). El tamaño efectivo de la muestra fue estimado mediante el algoritmo de GEYER (1992). Se aplicó el test de GELMAN and RUBIN's (1992) para el diagnóstico de convergencia. Los estadísticos de las distribuciones marginales posteriores se calcularon directamente de las muestras guardadas.

Resultados y discusión

El cuadro 1 muestra estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de la heredabilidad de la fertilidad de macho y de hembra, porcentaje de efectos ambientales permanentes asociados al macho y a la hembra, y correlación genética entre la fertilidad del macho y de la hembra. El test de GELMAN and RUBIN (1992) indicó convergencia para todos los parámetros ya que el factor de escala calculado ("shrink factor") fue siempre cercano a 1. Como se esperaba, los valores más altos de la correlación entre muestras y el menor valor del tamaño efectivo correspondieron a la correlación genética entre la fertilidad del macho y de la hembra y a la heredabilidad de la fertilidad del macho en ambas líneas, pero el error de Monte Carlo fue siempre pequeño (menor del 2% de la media posterior). Así, las estimas pueden considerarse suficientemente precisas.

La heredabilidad de la fertilidad del macho y el porcentaje de variación ambiental asociado a éste fueron prácticamente nulos en ambas líneas siendo la repetibilidad de ese carácter 4,4% en la línea C y

Cuadro 1. Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de la heredabilidad de la fertilidad de macho y de hembra (h_m^2, h_f^2), porcentaje de variación ambiental debida al macho o a la hembra (p_m, p_f) y correlación genética entre la fertilidad del macho y de la hembra (r_g).

line		PM ¹	PSD ¹	5% ¹	50% ¹	95% ¹	MCse ¹	Lag-1 ¹	ESS ¹	√R ¹
C	h_m^2	0.013	0.006	0.004	0.013	0.024	0.00012	0.995	117.25	1.08
	h_f^2	0.056	0.013	0.035	0.056	0.080	0.00024	0.987	174.45	1.01
	r_g	0.733	0.197	0.359	0.766	0.993	0.00379	0.996	136.50	1.00
	p_m	0.031	0.007	0.019	0.031	0.043	0.00012	0.979	208.45	1.01
	p_f	0.128	0.018	0.099	0.128	0.158	0.00025	0.955	695.96	1.00
P	h_m^2	0.010	0.008	0.001	0.009	0.025	0.00016	0.995	165.88	1.03
	h_f^2	0.062	0.018	0.035	0.061	0.093	0.00029	0.983	1065.90	1.00
	r_g	0.434	0.381	-0.260	0.478	0.962	0.00771	0.997	208.92	1.05
	p_m	0.053	0.010	0.036	0.053	0.069	0.00015	0.959	390.63	1.00
	p_f	0.231	0.024	0.191	0.231	0.271	0.00028	0.928	2937.45	1.01

¹PM: media posterior; PSD: desviación típica posterior; 5%, 50%, 95%: percentiles al 5, 50 y 95%, MCse: error de Monte Carlo de la media, Lag-1: correlación entre dos muestras sucesivas; ESS: tamaño efectivo de la muestra, √R: Shrink factor.

6.3% en la línea P. Este resultado indica que la mayor parte de la variación fenotípica de este carácter puede ser explicada por fuentes de variación no relacionadas con el macho. La heredabilidad de la fertilidad de la hembra fue baja en ambas líneas (alrededor del 5%) y el porcentaje de variación ambiental debido a la hembra 13 y 23%, siendo la repetibilidad de la fertilidad de la hembra 18.4% y 29.3% en las líneas C y P respectivamente. Estos resultados indican que existe variación genética para la fertilidad de la hembra y por tanto, sería posible mejorar el comportamiento reproductivo incluyendo dicho carácter en un programa de selección aunque la respuesta obtenida sería probablemente muy baja. La media posterior de la correlación genética entre la fertilidad del macho y de la hembra fue alta y positiva en la línea C (0.73 siendo la pro-

babilidad de un valor positivo de la densidad marginal posterior 0.999) indicando que el control genético de la fertilidad podría ser parcialmente el mismo para machos y hembras. En la línea P, la desviación típica posterior fue mayor posiblemente debido a la menor cantidad de datos, siendo la probabilidad de un valor positivo 0.87. Las estimas de la heredabilidad concuerdan con los valores encontrados por VARONA y NOGUERA (2001) en cerdos para el carácter fertilidad también definido como éxito o fracaso a la cubrición ($h_m^2=0.028$ and $h_f^2=0.038$) o WELLER y RON (1992), BOICHARD y MANFREDI (1994) y WEIGEL y REKAYA (2000) en vacuno de leche, cuyas estimas de la heredabilidad de la fertilidad de la hembra definida como tasa de no-retornos a los 56 días tras la inseminación artificial varían entre 2,2% y 3,5%. Sin

embargo, las estimas encontradas en la literatura de la correlación genética entre la fertilidad del macho y de la hembra en porcino y vacuno de leche fueron pequeñas o moderadas y negativas. En conejo, BLASCO y col. (1979) estimaron la repetibilidad del carácter número de servicios del macho por cubrición fértil obteniendo un valor nulo. KHALIL y SOLIMAN (1989) y MOURA y col. (2001) estimaron la heredabilidad del intervalo entre partos y del número de servicios/parto y también encuentran valores cercanos a cero.

El cuadro 2 muestra estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales

posteriores de las diferencias entre niveles del efecto del estado fisiológico de la hembra en la escala subyacente. En la línea C, la fertilidad fue mayor para hembras multíparas no lactantes en el momento de la cubrición y para hembras nulíparas con respecto a hembras multíparas lactantes. Estos resultados sugieren que la lactación posee un efecto negativo sobre la fertilidad, como ya había sido descrito previamente por FORTUN-LAMOTHE y BOLET (1995). En la línea P, no se encontraron diferencias entre niveles del efecto estado fisiológico de la hembra.

Cuadro 2. Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre niveles del efecto del estado fisiológico de la hembra

línea		PM ¹	PSD ¹	P>0
C	phs1-phs3	-0.075	0.054	0.08
	phs2-phs3	-0.202	0.053	0.00
	phs2-phs1	-0.127	0.027	0.00
P	phs1-phs3	-0.068	0.090	0.23
	phs2-phs3	-0.068	0.090	0.22
	phs2-phs1	0.000	0.036	0.50

¹PM: media posterior; PSD: desviación típica posterior; P>0: probabilidad de una diferencia positiva.

Conclusiones

Este estudio demuestra la existencia en conejos de variación genética y ambiental para la fertilidad de la hembra, definida como éxito o fracaso a la cubrición, pero prácticamente despreciable para la fertilidad del macho. La correlación genética entre ambos caracteres fue alta y positiva lo que sugiere que su control genético podría ser parcialmente el mismo, aunque este resultado debería ser confirmado. Por tanto,

el comportamiento reproductivo podría ser mejorado incluyendo el carácter fertilidad de la hembra en un programa de selección aunque, dado el bajo valor de la heredabilidad, la eficacia a la selección sería pequeña. Una alternativa podría ser la selección indirecta por otros caracteres correlacionados, como los caracteres de calidad seminal, pero sería necesario conocer su heredabilidad y correlación genética con la fertilidad para evaluar las posibles estrategias de selección.

Bibliografía

- BLASCO A., GARCÍA F., BASELGA M., 1979. Estudio de la repetibilidad de caracteres productivos en el conejo de carne. *4º symposium nacional de cunicultura*. León, España, 97-110.
- BOICHARD D., MANFREDI E., 1994. Genetic analysis of conception rate in French Holstein cattle. *Acta Agriculture Scandinava. Sect. A, Animal Science*, 44: 138-145.
- FORTUN-LAMOTHE L., BOLET G. Les effets de la lactation sur les performances de reproduction chez la lapine. *INRA Prod. Anim.*, 8: 49-53.
- GELFAND A., SMITH A.F.M., 1990. Sampling-based approaches to calculating marginal densities. *Journal of the American Statistical Association*, 85: 398-409.
- GELMAN A., RUBIN D.B., 1992. Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Statistical Science*, 7: 457-72.
- GEYER C.J., 1992. Practical Markov Chain Monte Carlo. *Statistical Science*, 7: 473-511.
- KHALIL M.H., SOLIMAN A.M., 1989. Genetic analysis of some reproductive traits in female rabbits. *Journal of Applied Rabbit Research*, 12: 205-208.
- MORENO C., SORENSEN D., GARCÍA-CORTÉS L.A., VARONA L., ALTARRIBA J., 1997. On biased inference about variance components in the binary threshold model. *Genetics, Selection, Evolution*, 29: 145-160.
- MOURA A.S.A.M.T., COSTA A.R.C., POLASTRE R., 2001. Variance components and response to selection for reproductive litter and growth traits through a multi-purpose index. *World Rabbit Science*, 9: 77-86.
- SOERENSEN D.S., ANDERSEN S., GIANOLA D., KORSGAARD I., 1995. Bayesian inference in threshold models using Gibbs sampling. *Genetics, Selection, Evolution*, 27: 229-249.
- VARONA L., NOGUERA J.L., 2001. Variance components of fertility in Spanish Landrace pigs. *Livestock Production Science*, 67: 217-221.
- VARONA L., MISZTAL I., BERTRAND J.K., 1999. Threshold-linear vs linear-linear análisis of birth weight and calving ease using an animal model. I. Variance component estimation. *Journal of animal Science*, 77: 1994-2002.
- WEIGEL K.A., REKAYA R., 2000. Genetic parameters for reproductive traits of Holstein cattle in California and Minnesota. *Journal of dairy Science*, 83: 1072-1080.
- WELLER J., RON M., 1992. Genetic analysis of fertility traits in Israeli Holsteins by linear and threshold models. *Journal of Dairy Science*, 75: 2541-2548.
- WRIGHT S., 1934. An analysis of variability in number of digits in an inbred strain of guinea pigs. *Genetics*, 19.

COSTES DE MAMITIS EN VACUNO DE LECHE

M.A. Pérez-Cabal, M.T. Fernández-Perea*, R. Alenda

Dpto. Producción Animal - E.T.S.I. Agrónomos (UPM)

* Dpto. Mejora Genética Animal - INIA (Madrid)

Introducción

La rentabilidad de una vaca viene determinada por una combinación de su productividad y funcionalidad. La selección hacia animales genéticamente más productores ha dado lugar a un alto nivel productivo, pero a su vez ha generado problemas de funcionalidad (HANSEN, 2000) y mayores costes por problemas digestivos, reproductivos y sanitarios, sobre todo por mamitis. La mejora de la rentabilidad debe ir enfocada hacia una mejora de la funcionalidad. Actualmente, en España y otros países se evalúa genéticamente la funcionalidad a través de la longevidad y los caracteres de tipo. La longevidad es un carácter complejo que combina la habilidad reproductiva, la salud de la ubre y los problemas de locomoción (MULDER y JANSEN, 2001). Una selección eficaz por rentabilidad debería tener en cuenta cada uno de estos factores por separado y cuantificar su importancia.

Los problemas de salud de la ubre, manifestados como mamitis clínicas o subclínicas, son la segunda causa de desecho tras la baja producción (BASCOT y YOUNG, 1998) y generan unos gastos que pueden suponer alrededor del 30% de los costes sanitarios (FOURINCHON *et al.*, 2001). Dos fuentes de costes son obvias para el ganadero: la penalización en el pago de la leche y los costes asociados de veterinario, tratamientos,

mano de obra extra, etc. Pero hay otro coste enmascarado debido a la reducción de producción asociada a un alto recuento celular (HORTET *et al.*, 1999). El objetivo de este trabajo es cuantificar los costes originados por la mamitis y determinar su repercusión en la rentabilidad individual.

Material y métodos

Se realizó una encuesta a los ganaderos del entorno de ABEREKIN, S.A. para determinar los costes de penalización y asociados en función del recuento celular. Los resultados medios obtenidos de las encuestas se presentan en el cuadro 1. Se ha considerado que se producen costes de mamitis únicamente en recuentos superiores a 400.000 células por mililitro. La reducción de la producción de leche en función del recuento celular se ha estimado a partir de los datos del control lechero del País Vasco y Navarra.

Funciones de costes

Con datos de 1.005.792 controles de lactaciones con fecha de parto entre 1990 y 2001, y los datos de la encuesta, se determinaron las funciones de costes asociados

Cuadro 1. Costes asociados y penalización media en pago de la leche por control en función del recuento celular

RCS (cél./ml.)	RCST	Costes asociados (€ /control)	Penalización pago (€ / litro)
< 400.000	< 5	-	-
400.000 - 500.000	5 -5.32	1.09	0.0180
500.000 - 600.000	5.32 - 5.58	1.37	0.0240
≥ 600.000	≥ 5.58	1.37	0.0361

RCST: Recuento celular transformado $RCST = \log_2 \left(\frac{RCS}{100.00} \right)$

(ASOC) y costes por penalización en el pago de la leche (PEN) por control mediante regresión múltiple no lineal con el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 1998):

$$ASOC (\text{€/control}) = -0.138857 - 0.775 \times RCST + 0.1251 \times RCST^2 + 0.7142 \times RCST^{1/2} - 0.08098 \times 2^{RCST}$$

$$PEN (\text{€/control}) = (-0.00056 - 0.0229 \times RCST + 0.003492 \times RCST^2 + 0.02172 \times RCST^{1/2} - 0.0002041 \times 2^{RCST}) \times \text{litros}$$

Para estimar la relación entre producción de leche por control y el recuento celular se analizaron 410.820 controles, correspondientes a las tres primeras lactaciones , mediante el procedimiento MIXED de SAS (SAS, 1998). El modelo utilizado fue AR(1), que tenía en cuenta los siguientes factores: el grupo rebaño-fecha de control, el recuento celular transformado, el número de lactación, el año-estación de parto y los días en lactación. La relación entre la producción por control y el recuento obtenida fue: $Producción \text{ (litros/control)} = 19.41 - 0.3067 \times RCST$. Por tanto, los costes debidos a la reducción de producción (RED_PROD) se han considerado como:

$$(RED_PROD) (\text{€/control}) = 0.3067 \times RCST \times \text{Precio de leche}$$

Cálculo de los costes de mamitis

Se han calculado los costes de mamitis por lactación para un total de 58.402 vacas, y se han incluido en el cálculo de la rentabilidad individual expresada por vaca y año. Los costes en cada lactación se han obtenido de dos formas. Una, considerando el recuento control a control. Otra, considerando el recuento medio por lactación.

a) *Control a control:* Se procedió de la misma forma que en el cálculo de la producción de leche por el método Fleischmann para obtener cada uno de los tres costes generados por la mamitis. Se sumó el coste medio entre dos controles multiplicado por el periodo transcurrido entre esos dos controles, a excepción del primer tramo (parto – primer control) y el último (último control – secado), en los que se multiplicó el periodo por el coste del control correspondiente, como se muestra a continuación:

$$Costes = \text{coste}_i \times (\text{fecha}_i - \text{fecha parto}) + \sum_{i=2}^{n-1} \frac{(\text{coste}_i + \text{coste}_{i-1})}{2} \times (\text{fecha}_i - \text{fecha}_{i-1}) + \text{coste}_n \times (\text{fecha}_{\text{secado}} - \text{fecha}_n)$$

b) *Recuento medio por lactación:* Se calculó el recuento medio por lactación como media aritmética de los controles registra-

dos de cada lactación de una vaca, y a partir de este valor, se obtuvieron cada uno de los tres costes (reducción de producción, penalización y asociados). Los costes por lactación se han calculado como:

$$\text{Costes} = \text{Producción} \times \text{leche} + (\text{Penalización} + \text{Asociados}) \times \text{dlac}$$

donde: leche = kg leche totales en esa lactación; dlac = días en lactación.

Cálculo de la rentabilidad

La rentabilidad por vaca y año se ha obtenido como diferencia entre ingresos y costes con el mismo procedimiento que PÉREZ-CABAL y ALENDA (2003), añadiendo los costes por mastitis. Los costes debidos a la reducción de la producción y a la penalización se han considerado como ingresos no recibidos:

$$\text{Ingresos} = \text{Venta leche} + \text{Venta terneros} + \text{Venta desecho} - \text{PEN} - \text{RED_PROD}$$

$$\text{Costes} = \text{Costes vaca} + \text{Costes recia} + \text{ASOC}$$

Resultados

El cuadro 2 resume los costes de mastitis calculados con el dato de recuento control a control y como media lactacional, y las correlaciones entre los dos métodos para la población estudiada. Como puede observarse, al utilizar el recuento medio por lactación los costes de mastitis se infravaloran en un 34% respecto a los obtenidos control a control. Las correlaciones entre ambos métodos de cálculo son de 0.82. En el cuadro 2 se presentan también los valores medios de costes de

mastitis y rentabilidad por vaca y año. Al calcular los costes de mastitis con el recuento medio por lactación se obtuvo un 43% más de rentabilidad (167 €/ vaca y año) que al tener en cuenta cada uno de los controles individuales (117 €/ vaca y año) y una correlación de 0.96. Estos resultados son similares a los obtenidos en otros estudios, aunque hay que tener en cuenta que los precios y el sistema de pago de la leche puede variar de un país a otro. En Estados Unidos se estimaron los costes anuales entre 90 y 250 \$ por vaca (SCHUTZ, 1994; ZHANG *et al.*, 1994), mientras que en Canadá se valoraron entre 140 y 300 \$ canadienses por vaca y año.

Teniendo en cuenta únicamente los animales afectados por mastitis, se observó una primera diferencia (cuadro 3), ya que control a control hubo un 24% de las vacas que no presentó ningún control superior a las 400.000 células por mililitro en su vida productiva, mientras que con el recuento medio por lactación resultó ser el 78%. Esto se debe a que el recuento medio diluye la incidencia puntual de mastitis en un animal y enmascara los costes que realmente se han generado. Sin embargo, al contrario de lo que ocurre con la población completa, los costes se sobreestiman utilizando el recuento medio por lactación, ya que se estaría suponiendo que el animal ha presentado un recuento transformado constante superior a 5 a lo largo de toda la lactación. Las correlaciones se mantuvieron similares, alrededor de 0.82. Como consecuencia de los altos costes de mastitis, que se sobreestiman con el recuento medio por lactación (447 €), la rentabilidad se reduce un 64% respecto a la obtenida control a control (-154 € frente a 99 €/vaca y año, respectivamente).

Por tanto, los costes de mastitis deberían calcularse control a control. Así, por

Cuadro 2. Costes medios de penalización (PEN), reducción de la producción (RED_PROD), asociados (ASOC) y totales de mastitis, por día de lactación y por año, calculados control a control o con el recuento medio por lactación, y la correlación entre los dos métodos, de toda la población estudiada

Costes n= 58.402 vacas	Control a control	Recuento medio por lactación	Correlación
€/ vaca y día lactación			
PEN	0.06 ±0.08	0.04 ±0.10	0.82
RED_PROD	0.06 ±0.06	0.04 ±0.09	0.81
ASOC	0.37 ±0.40	0.23 ±0.52	0.82
Total mastitis	0.47 ±0.53	0.31 ±0.70	0.82
€/ vaca y año			
Mastitis	147.99 ± 170.34	97.85 ± 225.32	0.81
Rentabilidad	116.74 ± 462.63	166.88 ± 489.65	0.96

Cuadro 3. Costes medios de penalización (PEN), reducción de la producción (RED_PROD), asociados (ASOC) y totales de mastitis, por día de lactación y por año, calculados control a control o con el recuento medio por lactación, y la correlación entre los dos métodos, de las vacas infectadas

Costes	Control a control n = 44.149 vacas	Recuento medio por lactación n = 12.784 vacas	Correlación
€/ vaca y día lactación			
PEN	0.08 ±0.08	0.20 ±0.12	0.83
RED_PROD	0.08 ±0.06	0.18 ±0.10	0.81
ASOC	0.46 ±0.40	1.05 ±0.62	0.83
Total mastitis	0.62 ±0.53	1.42 ±0.83	0.83
€/ vaca y año			
Mastitis	195.76 ± 170.39	447.03 ± 275.41	0.84
Rentabilidad	99.19 ± 456.32	-154.17 ± 506.55	0.96

ejemplo, una vaca infectada en tercera lactación habrá tenido 40 € de penalización, 216 € de costes asociados y una reducción de producción de 159 kg. de leche en esa lactación (figura 1). Además, se observa que son las vacas de primera lactación las que tuvieron menores costes de mastitis y estos fueron aumentando con la vida pro-

ductiva del animal, pues la penalización en el pago de la leche no varía sustancialmente con las lactaciones, mientras que a mayor número de lactación, mayores son los costes asociados y la reducción de producción (debido a que la producción aumenta con el número de lactación).

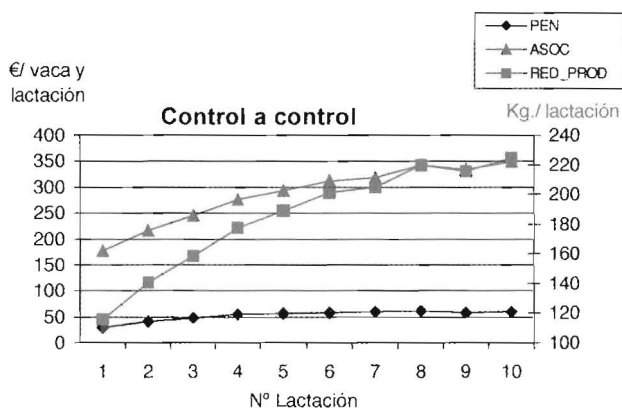


Figura 1. Costes medios por lactación debidos a penalización en el pago de la leche (PEN) y costes asociados (ASOC), y disminución de producción (RED_PROD) en función del número de lactación, obtenidos con el recuento control a control.

Conclusiones

El cálculo de los costes de mastitis utilizando la información de cada control, disponible en el control lechero, permite determinar de forma más precisa los costes debidos a problemas de la salud de la ubre. Este método presenta dos ventajas frente al uso del recuento medio por lactación: al contabilizar cada infección puntual no se enmascaran costes y tampoco se generaliza un recuento alto a toda una lactación.

Bibliografía

- BASCOM S.S., YOUNG A.J., 1998. *J. Dairy Sci.* 81: 2299-2305.
- FOURINCHON C., SEEGER H., BEAUDEAU F., VERFAILLE L., BARILLE N., 2001. *Livest. Prod. Sci.* 68: 141-156.
- HANSEN L.B., 2000. *J. Dairy Sci.* 83: 1145-1150.
- HORTEF P., BEAUDEAU F., SEEGER H., FOURINCHON C., 1999. *Livest. Prod. Sci.* 61: 33-42.
- SAS, 1998. User's Guide, Release 6.12. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- MULDER H., JANSEN G., 2001. Disponible en WWW en: <http://www.cdn.ca/committees/archives/Sept2001/MulderJansen.pdf>
- PÉRIEZ-CABAL M.A., ALEND A., 2003. *J. Dairy Sci.* 86: 4115-4121.
- SCHUTZ M.M., 1994. *J. Dairy Sci.* 77: 2113-2129.
- ZHANG W.C., DEKKERS J.C.M., BANOS G., BURNSIDE E.B., 1994. *J. Dairy Sci.* 77: 659-665.

DEL QTL AL GEN

M. Pérez-Enciso

Institut Català de Recerca i Estudis Avançats (ICREA),
Pg. Lluís Companys 23, 08010 Barcelona
<http://www.icrea.es/pag.asp?id=Miguel.Perez>

Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Ciència
Animal i Tecnologia dels Aliments, 08193 Bellaterra¹
miguel.perez@uab.es

RESUMEN

Este trabajo resume algunos de los principales avances metodológicos de la era QTL y de los desafíos que esperan. La metodología del modelo mixto es, y seguirá siendo, una herramienta clave en el análisis genético de los caracteres cuantitativos. 'Sólo' debemos irle añadiendo piezas para adecuarlo a las necesidades de cada situación, lo que no quiere decir que sea una tarea fácil. En estos momentos, ya disponemos de una teoría bastante general para el análisis de QTL, aunque echamos de menos un análisis más detallado de las posibles epistasis en el genoma o métodos específicos para caracteres longitudinales o de supervivencia. Tampoco parece haber un consenso generalizado sobre qué criterio emplear para fijar los umbrales de significación. Uno de los temas más candentes en estos momentos es el de localizar una mutación lo más precisamente posible, debemos encontrar formas robustas de incorporar el desequilibrio de ligamiento. Desde un punto de vista experimental, son las razas sintéticas las más adecuadas para llevar a cabo un experimento de cartografía fina. Por último, repasamos algunos de los desafíos que encontraremos próximamente: la genética genómica y los diversos proyectos hapmap. Urge un diálogo con los bioinformáticos y con los genetistas de poblaciones y evolutivos.

Antes del microsatélite (Henderson)

El paradigma clásico en Genética Cuantitativa Animal consta de tres herramientas principales: el modelo mixto, el modelo genético infinitesimal y el mendelismo. Las clásicas ecuaciones del modelo mixto son válidas sólo si aceptamos todos estos ingredientes. Bajo el modelo infinite-

simal y aceptando las reglas mendelianas de transmisión hereditaria, la única información relevante para calcular las probabilidades de que dos alelos sean idénticos por descendencia (IBD) es el pedigrí. Nótese, en todo caso, que estas probabilidades son siempre *condicionales* al pedigrí, y nunca absolutas. Si utilizáramos todo el pedigrí real desde el origen de una especie o de una raza, posiblemente la consanguinidad de

1. Correspondencia a esta dirección.

todos los individuos sería 1. Cuando el objetivo es identificar las causas últimas de la variabilidad genética para caracteres cuantitativos, es evidente que el modelo infinitesimal no nos sirve, ya que implica que la probabilidad de IBD entre dos individuos es constante a lo largo del genoma. Son precisamente las fluctuaciones en IBD con respecto a lo esperado bajo el modelo infinitesimal las que nos permiten ir más allá e identificar los llamados QTL. En contraste con el modelo genético infinitesimal, el modelo mixto es, y seguirá siendo con toda probabilidad, una herramienta fundamental en el análisis genético de los caracteres 'complejos'. Por tanto, debemos adaptar el modelo mixto a las peculiaridades del análisis de caracteres cuantitativos mediante marcadores (QTL).

Durante el microsatélite (QTL)

Insistamos una vez más en que un QTL es sólo una asociación *estadística* entre una región del genoma y un carácter. Ir desde un QTL al gen en sí mismo es una tarea extremadamente ardua, la mayor parte de las veces ingrata. A los genéticos con una formación cuantitativa nos es difícil comprender que una región de 20 o 30 cM es absolutamente gigantesca desde el punto de vista molecular: puede contener centenas de genes y decenas de miles de polimorfismos. En la búsqueda de genes candidatos, es normal la angustia de los estudiantes al ver que el intervalo de confianza para un QTL varía de sólo unos cM 'insignificantes' al rehacer

el análisis incluyendo unos pocos individuos más o cambiando ligeramente el modelo de análisis. La diversidad de resultados según el método estadístico empleado, además, no hace sino empañar la ya deslucida reputación de los metodólogos, una palabra quizá demasiado próxima de la de meteorólogo².

Dicho (o más bien escrito) esto, no cabe duda tampoco del éxito e interés científico que ha despertado la disponibilidad de un gran número de polimorfismos distribuidos por todo el genoma y relativamente baratos de genotipar, los microsatélites. Una de las ventajas de metodología de QTL es que los mismos principios se pueden aplicar a cualquier especie y carácter, no hace falta tener un conocimiento previo de la base genética del carácter. En los últimos diez años se ha avanzado mucho en el conocimiento de la arquitectura genética de los caracteres cuantitativos. Que sepamos muchísimo más no quiere decir, sin embargo, que comprendamos exactamente qué es lo que observamos. Un resultado general es que la mayoría de los QTL presentan una acción génica aditiva y que la epistasia no es muy frecuente. A la vista de la gran cantidad de QTL publicados, cunde un cierto pesimismo entre los cutelólogos en el sentido de que, al fin y al cabo, el modelo infinitesimal no era tan malo como lo pintaban. Creo que éste es un pesimismo pasajero hasta que vayamos conociendo las bases genéticas precisas de la variación cuantitativa. Recordemos que QTL es de los pocos vocablos genéticos que se usan tanto en genética humana, animal, o vegetal, sólo los microbios parecen carecer de QTL.

2. Tal como puede comprobarse fácilmente con CLUSTAL, una sola delección y un SNP separan ambas secuencias-palabra, lo que hace sospechar que se trata del mismo gen que hace poco tiempo sufrió una duplicación. Previsiblemente, las funciones se deben haber conservado o, cuando menos, ser muy similares.

Desde un punto de vista estadístico, llama la atención la simplicidad de las estrategias utilizadas corrientemente para el análisis de QTL, sobre todo cuando se compara con la sofisticación que habían alcanzado los modelos mixtos utilizados en la evaluación de los reproductores, por ejemplo de las evaluaciones internacionales de los toros lecheros. En este sentido, los experimentos de QTL han supuesto un retroceso enorme en la artillería estadística de los mejoradores. Normalmente, los cruces entre poblaciones se han analizado suponiendo que los alelos de los QTL están fijados en cada raza y en los análisis dentro de razas 'puras' se han analizado las familias de (medios) hermanos como si estuvieran emparentadas. En ambos casos los métodos sencillos tipo mínimos cuadrados han sido más populares que estrategias más generales como la basadas en verosimilitud. De vez en cuando, además, ocurren situaciones curiosas con los fenotipos utilizados. Por ejemplo, en vacuno lechero se ha usado como fenotipo el valor BLUP que se obtiene asumiendo un modelo infinitesimal: sin duda, sería mucho más apropiado utilizar los datos brutos.

Es deseable profundizar en una teoría general y unificada que nos permita el análisis genético de caracteres complejos. Dicha teoría puede estar basada en el modelo mixto. La formulación clásica se puede representar como

$$y = Xb + Zu + e$$

En el caso que nos ocupa, el objetivo final es encontrar un modelo alternativo, que sería

$$y = Xb + Zu + e + \sum_{j=1}^{n_{\text{loci}}} W_j g_j + e,$$

donde W_j es una matriz de incidencia que relaciona los individuos con los alelos del locus j , mientras que g contiene los efectos

alélicos para cada locus. Es evidente que la principal diferencia entre esta ecuación y la primera es que en la segunda las matrices de incidencia (W) no son conocidas, como no lo son su dimensión (el número de alelos) ni siquiera el número de loci que afectan a cada carácter. Si se conocieran, empero, el bagaje teórico del modelo mixto podría ser empleado sin ninguna modificación. En última instancia, podríamos aspirar al modelo

$$y = Xb + \sum_{j=1}^{n_{\text{loci}}} W_j g_j + e,$$

esto es, aquél que nos permitiera individualizar todas causas genéticas sin recurrir a un residuo genético infinitesimal. Lógicamente, la particularidad de los análisis de QTL es que la matriz W es desconocida. La información de marcadores nos permite, sin embargo, estimarla. La forma en cómo utilicemos los marcadores para estimar W y en cómo definamos g resultará en distintos modelos que cubren la mayor parte, o la totalidad, de los diversos diseños experimentales de QTL. Dentro del paradigma del modelo mixto es inmediato, además, considerar modelos multicarácter donde no es necesario asumir que el mismo modelo para todos los caracteres.

Durante el SNP

En estos momentos, uno de los problemas más importantes a los que nos enfrentamos es el mapeo fino, es decir, la localización de los QTL lo más precisamente posible. Idealmente, deberíamos reducir el intervalo de confianza a menos de un cM si queremos encontrar candidatos posicionales con un mínimo de garantía. El principal factor limitante para la cartografía fina es la ausencia de recombinantes, más que el

número de individuos genotipados o la densidad de marcadores. Desde el punto de vista experimental, las razas sintéticas son un material idóneo, especialmente si también se dispone de material genético de las líneas o razas fundadoras. En la mayor parte de las especies domésticas, además, todavía no disponemos de la secuencia del genoma, con la excepción de un borrador en el pollo. Esta situación es transitoria, pero afecta profundamente al tipo de estudios que se pueden abordar.

Uno de los temas más interesantes en estos momentos, desde el punto de vista metodológico, es combinar la información de ligamiento y la de asociación (desequilibrio, LD). Por desgracia, la forma óptima de utilizar el LD depende de la historia de la población, que en general no es conocida. Metodológicamente, los dos problemas principales del mapeo fino son identificar qué alelos del QTL porta cada individuo y calcular la probabilidad de IBD entre dos individuos en cada región del genoma. Por curioso que parezca obtener las probabilidades IBD es un problema extremadamente complejo que las técnicas de Monte Carlo alivian, pero no resuelven completamente. Hoy no sabemos siquiera si se puede resolver en un tiempo realista de computación (hablamos entonces de un problema 'NP', *non-polynomial time*). La mayoría de los enfoques utilizan, explícita o implícitamente, aproximaciones y simplificaciones. Además, el éxito o fracaso de la cartografía fina depende también del grado de heterogeneidad genética, del número de loci realmente implicados en el carácter y de la fiabilidad en el registro de los fenotipos.

Una estrategia adicional al análisis clásico de QTL es identificar la huella de la selección a través del patrón de polimorfismos en determinadas regiones candidatas o a lo largo de todo el genoma. Desde hace

décadas, pero con más ímpetu en los últimos años, se han inventado diversos tests que permiten establecer si la variabilidad de una secuencia de ADN es explicable sólo por deriva o si hay evidencia de selección. En general, la selección causa una disminución en la variabilidad genética. Una huella típica de la selección es un gran número de loci con alelos a baja frecuencia y un nivel de desequilibrio de ligamiento mayor que el esperado por azar. La mayoría de tests están basados en la teoría de la coalescencia, inventada por KINGMAN en 1982. Este enfoque se ha aplicado con éxito en la especie humana, donde la base pública de SNPs permite realizar estudios de la variabilidad a lo largo de todo el genoma. Pensamos que este enfoque es aún más prometedor en las especies domésticas que en la humana debido a la amplia diversidad entre razas, la intensidad de selección, el corto intervalo generacional, que permite almacenar ADN de muchas generaciones en un tiempo razonable, y la existencia de ancestros no domesticados.

Después (La posgenómica)

Es ésta, sin duda, la etapa más interesante. Quisiera incidir en dos desafíos que se nos presentarán de forma más o menos inmediata, por lo menos en Genética Humana. El primero se refiere a la Genética Genómica, el segundo, a la disponibilidad de grandes cantidades de polimorfismos (proyectos hapmap).

El término genética genómica, acuñado por Ritsert Jansen, se refiere al estudio conjunto de la variabilidad del transcriptoma y del polimorfismo en la secuencia. Podemos distinguir dos enfoques. El primero, trata de determinar la arquitectura genética del trans-

criptoma, en forma de miles de análisis QTL donde los fenotipos son los niveles de cDNA asociados a cada gen. Como ejemplo de este enfoque, véase el trabajo de BREM *et al.* (2002). El segundo enfoque consiste en utilizar los datos de expresión como ayuda para la localización de genes candidato. Para que esta estrategia tenga sentido se deben cumplir dos condiciones: i) alguno de los niveles de expresión debe estar bajo control genético, al menos parcial, y ii) alguno de los niveles de expresión heredables debe estar correlacionado con el carácter de interés. En caso contrario, no sólo aumentamos enormemente el coste del experimento, sino que también disminuimos su potencia al añadir parámetros innecesariamente. El lector interesado puede consultar los trabajos de MOOTHA *et al.* (2003) y el nuestro (PÉREZ-ENCISO *et al.*, 2003).

¿Y si tuviéramos la secuencia completa de 10,000 toros lecheros y quisiéramos conocer los genes que afectan a la producción lechera? Un primer enfoque podría ser identificar las regiones para las que los 'supertoros' tengan la misma secuencia. Sin embargo, un problema sería determinar cuál/cuáles de las regiones son importantes, por ejemplo, en una región 5' supuestamente reguladora ¿todas las diferencias en SNP son igualmente relevantes? Por otro lado, si existen bloques de haplotipos será imposible determinar la mutación causal última, sólo el bloque. Intentar responder a esta pregunta pone de manifiesto que no es obvio cuál es la mejor estrategia para la identificación de las mutaciones causales. Nótese que en esta situación la información del pedigrí es irrelevante, a no ser para determinar los haplotipos. A corto plazo, el tipo de información de la que dispondremos es de una gran cantidad de SNPs en poblaciones experimentales (p.e. estudios caso / control). Si el genotipado es suficientemente denso, podemos apli-

car técnicas basadas en la coalescencia para determinar si la región genotipada sufre una presión selectiva.

Conclusión: Algunas necesidades metodológicas

Como conclusión, me gustaría incidir en algunos aspectos que necesitan de nuevos avances metodológicos.

- Estudios de asociación masivos: No es descabellado pensar que tendremos estudios de genética genómica o similares a gran escala en un futuro próximo. Dispondremos, no sólo de gran cantidad de genotipos, sino también de fenotipos. Existen dos problemas principales en este caso: uno, encontrar el equilibrio entre potencia y porcentaje de falso positivos; y dos, encontrar nuevos fenotipos, combinaciones de los originales, cuya arquitectura genética sea más fácil de interpretar que la de sus componentes. Una herramienta atractiva podría ser el cálculo de factores de Bayes para la comparación masiva de modelos.

- Coalescencia para caracteres cuantitativos: Si bien hay técnicas para identificar estructuración dentro de una población (lo que nos sirve para asociar haplotipos y caracteres binarios, como enfermedades), la teoría sobre cómo proceder cuando se trata de un carácter continuo no está apenas desarrollada. Está por ver, además, si la coalescencia puede ser aplicada sin problemas al estudio de las razas domésticas animales, que sufren una fuerte intensidad de selección y admixturas frecuentes.

- Reconstrucción de haplotipos: Una gran parte de estudios se recogen muestras aisladas, sin pedigrí. Sin embargo, el conocimiento de las fases es una ayuda funda-

mental para sacar el máximo partido de la información genotípica. Necesitamos métodos que nos permitan reconstruir los haplotipos con la máxima fiabilidad y el mínimo de asunciones con respecto a la historia de la población.

- Bioinformática: A pesar de su espectacular desarrollo y de que es una disciplina que requiere de habilidades próximas a las utilizadas por un mejorador clásico, apenas contamos con bioinformáticos entre nuestras filas. Urge reclutarlos y formarnos.

Agradecimientos

Estoy muy agradecido a los organizadores de este congreso por la invitación, en particular a Juan Manuel Afonso López, así como a Miguel Toro por sus comentarios. Quisiera dedicar este trabajo a los sufridos estudiantes que se dedican a la excavación del genoma buscando QTL.

Bibliografía

Esta bibliografía no tiene por objetivo principal fundamentar el texto, sino dar una lista de referencias que permita profundizar en los temas tratados en este trabajo.

QTL

ABIOLA O., ANGEL J.M., AVNER P., BACHMANOV A.A., BELKNAP J.K., *et al.*, 2003. The nature and identification of quantitative trait loci: a community's view. *Nat.Rev.Genet* 4: 911-916.

PÉREZ-ENCISO M., MISZTAL I., 2004. Qxpak: A versatile mixed model application for genetical genomics and QTL analyses. *Bioinformatics* en prensa. (disponible en <http://www.icrea.es/pag.asp?id=Miguel.Perez>).

SNP

ARDLIE K.G., KRUGLYAK L., SEIELSTAD M., 2002. Patterns of linkage disequilibrium in the human genome. *Nat Rev Genet* 3: 299-309.

BAMSHAD M., WOODING S.P., 2003. Signatures of natural selection in the human genome. *Nat Rev Genet* 4: 99-111.

HAMBLIN M.T., THOMPSON E.E., DI RIENZO A., 2002. Complex signatures of natural selection at the Duffy blood group locus. *Am J Hum Genet* 70: 369-83.

LIU J.S., SABATTI C., TENG J., KEATS B.J., RISCH N., 2001. Bayesian analysis of haplotypes for linkage disequilibrium mapping. *Genome Res.* 11: 1716-24.

MEUWISSEN T.H., GODDARD, M.E., 2001. Prediction of identity by descent probabilities from marker-haplotypes. *Genet Sel Evol* 33, 605-634.

NORDBORG M., TAVARÉ S., 2002. Linkage disequilibrium: what history has to tell us. *Trends Genet* 18: 83-90.

SABETI P.C., PATTERSON N., VANDERPLOEG T., SCHAFFNER S.F., DRAKE J.A., RHODES M., REICH D.E., HIRSCHHORN J.N., 2004. Genetic Signatures of Strong Recent Positive Selection at the Lactase Gene. *Am J Hum Genet* 74: 1111

Posgenómica

BREM R.B., YVERT G., CLINTON R., KRUGLYAK L., 2002. Genetic Dissection of Transcriptional Regulation in Budding Yeast. *Science* 296, 752-755.

HASTIE T., TIBSHIRANI R., FRIEDMAN J.H., 2001. The Elements of Statistical Learning, Springer Verlag, New York.

JANSEN R.C., 2003. Studying complex biological systems using multifactorial perturbation. *Nat.Rev.Genet.* 4: 145-151.

MOOTHA V.K., LEPAGE P., MILLER K., BUNKENBORG J., REICH M., HJERRILD M., DELMONTE T., VILLENEUVE A., SLADEK R., XU F., MITCHELL G.A., MORIN C., MANN M., HUDSON T.J., ROBINSON B., RIOUX J.D., LANDER E.S., 2003. Identification of a gene causing human cytochrome c oxidase deficiency by integrative genomics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 605-610.

NELSON M.R., KARDIA S.L., FERRELL R.E., SING C.F., 2001. A combinatorial partitioning method to iden-

- tify multilocus genotypic partitions that predict quantitative trait variation. *Genome Res* 11: 458-70.
- PEÑA D., 2002. *Analisis de Datos Multivariantes*. McGraw-Hill.
- PÉREZ-ENCISO M., TORO M.A., TENENHAUS M., GIANOLA D., 2003. Combining gene expression and molecular marker information for mapping complex trait genes: a simulation study. *Genetics* 164: 1597-1606.
- POCIOT F., KARLSEN A.E., PEDERSEN C.B., AALUND M., NERUP J., 2004. Novel analytical methods applied to type 1 diabetes genome-scan data. *Am. J. Hum. Genet.* 74:647-660.
- STOLL M., COWLEY A.W., TONELLATO P.J.JR., GREENE A.S., KALDUNSKI M.L., *et al.*, 2001. A Genomic-Systems Biology Map for Cardiovascular Function. *Science* 294: 1723-1726.
- UEDA H., HOWSON J.M., ESPOSITO L., HEWARD J., SNOOK H., *et al.*, 2003. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* 423: 506-511.

HEREDABILIDAD DEL CARÁCTER PRESENCIA O AUSENCIA DE DEFORMACIONES ESQUELÉTICAS EN DORADA (*SPARUS AURATA* L.)

N. Astorga*, M.J. Zamorano*, M.A. Toro**,
L.A. García Cortés**, D. Montero***, J.M. Afonso*

* Dpto. Patología Animal, Producción Animal y C.T.A.,
Facultad de Veterinaria. ULPGC. Trasmontaña s/n, 35416,
Aruacas

** Dpto de Mejora Genética Animal. INIA, Carretera La
Coruña Km. 7, 28040 Madrid

*** Instituto Canario de Ciencias Marinas, 35200, Telde,
Spain

nicolas.astorga101@doctorandos.ulpgc.es

Introducción

La dorada es una especie perteneciente a la familia de los espáridos (*Sparus aurata*, Linnaeus, 1758), cuya producción está cercana a las 80.000 toneladas y de las que España produjo unas 10.960 toneladas durante el 2002 (FEAP, 2004).

Uno de los mayores problemas que tiene la industria de dorada son las deformaciones esqueléticas, pues constituyen hasta un 5% de la producción total (ANDRADES *et al.*, 1996). Este hecho, junto a que su comercialización se realiza como pez entero, produce pérdidas económicas importantes en las empresas de cría y engorde, no sólo por la depreciación del producto sino también por las pérdidas asociadas de la realización de procesos de criba en los lotes.

Entre las causas ambientales más importantes que han sido asociadas a las deformidades esqueléticas están los factores abióticos, xenobióticos, nutricionales y las propias del cultivo intensivo. En este sentido, por ejemplo, GALLOWAY *et al.* (1999) pusieron de

relieve cómo la temperatura de cultivo produce alteraciones en la ontogenia del esqueleto y del músculo del halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). KIHARA *et al.* (2002) encontraron una relación creciente entre la incidencia de la lordosis y la velocidad de corriente, en larvas de dorada japonesa (*Pagrus aurata*). SLOMINSKA y JEZIEWSKA (2000) también encontraron una relación creciente entre los niveles de metales pesados (cobre y plomo) y la incidencia de la escoliosis o grado de osificación, para carpa común (*Cyprinus carpio*). Contrariamente, y en relación a la composición de la dieta, CAHU *et al.* (2003) determinaron una relación inversa entre el porcentaje que representan los fosfolípidos en la dieta y el porcentaje de malformaciones vertebrales de las larvas de lubina.

Desde el punto de vista genético, los estudios son escasos. Así, algunas deformidades esqueléticas han sido explicadas con modelos unigénicos, recesivos o dominantes, para lordosis y fusiones de vértebras en tilapia del Nilo (*Oreochromis nilotica*) y en "Guppy" (*Poecilia reticulata*) (ROSENTHAL

y ROSENTHAL, 1950; LODI, 1978; MAIR, 1992), o modelos poligénicos para una deformidad a modo de giba en salmón del Atlántico (McKAY y GJERDE, 1986). Para el caso particular de la dorada (*Sparus aurata* L.), una triple deformidad de la columna vertebral (lordosis-escoliosis-cifosis) en sentido antero-posterior, ha sido asociada a la estructura familiar (AFONSO *et al.*, 2000).

Al objeto de valorar en qué medida la variación de la incidencia de las deformidades entre familias de reproductores de dorada tiene delegación genética, en el presente estudio se ha realizado la estima de la heredabilidad del carácter dicotómico presencia (0) o ausencia (1) de las deformidades esqueléticas.

Material

Se evaluaron 11038 animales, procedentes de 18 padres y 19 madres, de los que 1315 fueron deformes y criados en distintos tanques (66) o réplicas por familia. La valoración fue realizada inicialmente a nivel morfológico y, posteriormente, mediante disección de los peces. Éstos pertenecían al programa de mejora genética para tolerancia al estrés realizado en las instalaciones del Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM).

Las condiciones del cultivo fueron las siguientes; los huevos fecundados de dorada se obtuvieron a partir de los diferentes cruces y fueron criados a una densidad de 100 huevos por litro en tanques cilíndricos de fibra de vidrio de 500 l, en los que se desarrollaron las larvas con fotoperíodo natural. Durante los tres primeros días, las larvas se mantuvieron en circuito de agua abierto, con un flujo de agua de mar de 0,5 l/min. A par-

tir del cuarto día las larvas fueron alimentadas, hasta el día 21, con rotíferos (*Brachionus plicatilis*) (7-15 rotíferos/ml.) enriquecidos con SELCO y con la microalga *Nannochloropsis* sp (3×10^5 células/ml.). A partir del día 22, las larvas fueron alimentadas con nauplios (0,5-2 nauplios/ml.) y metanauplios de *Artemia* (0,5-1 metanauplios/ml.) enriquecidas con SELCO. Finalmente, a partir de los 35-40 días las larvas fueron alimentadas con piensos de la casa comercial EWOS, S.A. hasta la talla de sacrificio del experimento (juvenil).

Métodos y resultados

Método no-paramétrico

Método

Se ha analizado si existe un mayor parentesco entre los individuos afectados por alguna deformidad. Para determinar si el parentesco entre los individuos deformes fue mayor que el esperado por azar se ha llevado a cabo un test no paramétrico de permutación. Para ello se ha sorteado el carácter (sano o enfermo) entre todos los individuos y se calculó el parentesco en 10000 de tales repeticiones aleatorias.

Resultados

Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 1. Los individuos enfermos están más emparentados y el resultado es muy significativo ($P < 0.0001$). El parentesco entre los sanos y los deformes es menor que lo esperado de forma altamente significativa ($P < 0.0001$). Ambos datos apoyarían la idea de que la susceptibilidad a las deformi-

Cuadro 1. Parentesco entre los animales y test de permutación

	Parentesco encontrado en los datos	Parentesco bajo la hipótesis nula de que no existe parecido familiar	Probabilidad de obtener el resultado encontrado en los datos
Enfermos x Enfermos	0.041090	0.036560	<0.0001
Sanos x Sanos	0.036323	0.036570	>0.93
Enfermos x Sanos	0.032510	0.036559	<0.0000

dades tiene un componente genético. Sin embargo entre los individuos sanos no es mayor que el esperado bajo la hipótesis nula (de hecho es menor), cosa que no debería ocurrir si existiera una base genética para la resistencia a la enfermedad.

Análisis con el modelo animal

Se ha ajustado el siguiente modelo lineal

$$y = X\beta + Zu + e$$

Siendo y el dato (0 o 1), β los efectos fijos: la media general y la réplica y u el valor genético aditivo.

El modelo se ha resuelto con el programa VCE 4.2. y la estima de la heredabilidad obtenida es 0,90 (d.t. 0,046). También se ha resuelto el modelo considerando la réplica como efecto fijo y en ese caso la heredabilidad es menor 0,775 (d.t. 0,048).

Análisis bayesiano

Método

Se ha asumido un modelo umbral dicotómico asignando los sanos y todos los deformes a cada una de las categorías. Se resolvió utilizando aumento de datos como des-

cribe SORENSEN *et al.* (GSE, 1995). Para simplificar la notación, se presenta únicamente la distribución posterior conjunta sobre la escala subyacente.

$$f(h^2, a, t|y) \propto f(y|h^2, a, t) f(a|h^2) f(h^2) f(t)$$

donde y es el fenotipo desconocido sobre dicha escala, t es un vector que contiene el efecto del tanque, a es el efecto genético aditivo de cada individuo y h^2 es la heredabilidad. La varianza residual y el valor del umbral se asumen fijos con valores 1 y 0 respectivamente. La distribución posterior se plantea en términos de h^2 en lugar de σ_a^2 , siendo el resto del modelo implementado de la forma convencional. Se asumieron planas las distribuciones a priori tanto de t como de h^2 , siendo esta última propia.

Resultados

En la figura 1 se presenta la distribución marginal de la heredabilidad obtenida a partir de un muestreo de Gibbs. La densidad marginal se estimó promediando las densidades condicionales obtenidas en cada ciclo obtenido tras el periodo de quemado (2522 ciclos determinados a partir de dos cadenas paralelas y 8 millones de ciclos después del periodo de quemado). El valor esperado de la heredabilidad dados los datos fue de

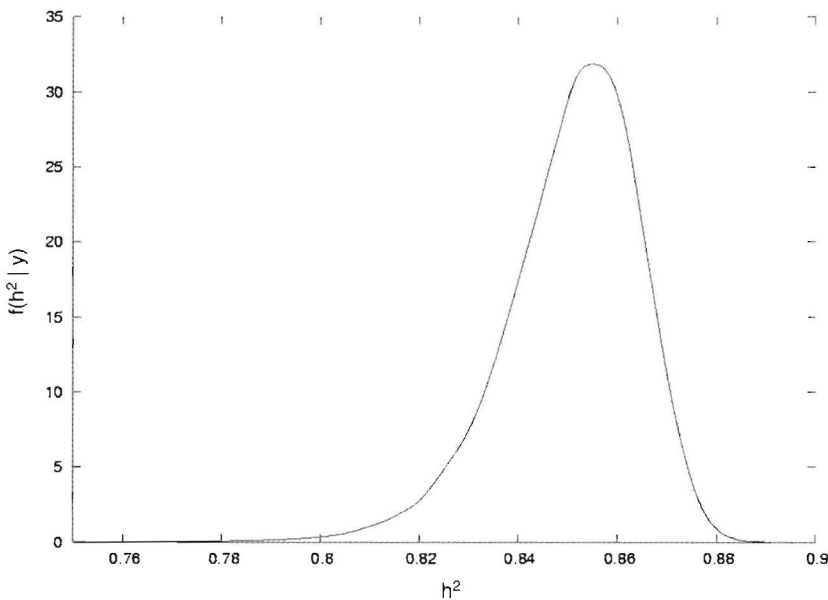


Figura 1. Distribución marginal de la heredabilidad dados los datos.

0,85, estando el 95% de la probabilidad marginal entre los valores 0,822 y 0,875.

Discusión

Hay varios aspectos específicos del presente estudio que interesa resaltar. En primer lugar, se trata de un experimento en el que no se ha realizado una criba previa de peces con malformaciones como se hace en las empresas cuando las doradas llegan a la talla de alevín. Por eso el porcentaje de deformaciones es un 12% en vez del 2-5% típico de los datos de producción. En segundo lugar, todos los peces del programa proceden de un experimento en que los peces fueron seleccionados con criterios de cortisol plasmático. En tercer lugar, en éste análisis preliminar se han agrupado todas las deformidades en una sola clase, aunque en un futu-

ro se piensa abordar un análisis más pormenorizado. En cuarto lugar, que en el presente estudio los condicionantes medioambientales del cultivo larvario (oxígeno, temperatura y pH) y el crecimiento de los alevines fueron los estándares establecidos para ésta especie (HERNÁNDEZ-CRUZ, 1993). Además, el agua con la cual se criaron los peces era oceánica, oligotrófica, sin concentración de contaminantes y procedentes de zonas de alta circulación.

Sin embargo, ninguno de estos aspectos parece explicar los sorprendentes resultados encontrados, ya que indican una heredabilidad extremadamente alta del 85%, mayor que ninguna de las encontradas en la literatura, la mayor de las cuales es la de MCKAY y GJERDE (1986) que da un valor de 0,64 para una deformidad esquelética en salmón del Atlántico. Este valor tan alto parecería indicar la presencia de un gen mayor que

fuera en gran medida el responsable del carácter. Por otra parte resulta también anómalo el hecho de que si bien el parentesco entre los individuos deformes es muy significativo, no lo sea el parentesco entre los individuos sanos. En cualquier caso parece conveniente proseguir los análisis estadísticos quizás llevando a cabo un análisis de segregación.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido financiado con el proyecto europeo (FAIR-CT95-0152).

Bibliografía

AFONSO J.M., MONTERO D., ROBAINA L., ASTORGA N., IZQUIERDO M.S., GINÉS R., 2000. Association of a lordosis-scoliosis-kyphosis deformity in gilthead seabream (*Sparus aurata*) with family structure. *Fish Physiol. Biochem.* 22: 159-163.

ANDRADES J., BECERRA J., FERNÁNDEZ-LLEBREZ P., 1996. Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*. 141, 1-11.

CAHU C., ZAMBONINO INFANTE J., BARBOSA V., 2003. Phospholipid level in dietary lipid fraction is determining for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larval development. *Br. J. Nutr.* 90: 21-28.

FEAP (2004). Federación Europea de Productores de Acuicultura. <http://www.feap.org>

GALLOWAY T.F., KJORSVIK E., KRYVI H., 1999. Muscle growth in yolk sac larvae of the Atlantic halibut as influenced by temperature in the eggs and yolk-sac stage. *J. Fish Biol.* 55: 26-43.

HERNÁNDEZ-CRUZ C.M., 1993. Mejora de las técnicas de cultivo larvario de dorada (*Sparus aurata* L. 1758) Tesis doctoral. Universidad de la Laguna. Tenerife. España. pp 149.

KIHARA M., OGATA S., KAWANO N., KUBOTA I., YAMAGUCHI R., 2002. Lordosis induction in juvenile red sea bream *Pagrus major* by high swimming activity. *Aquaculture*, 212: 149-158.

LODI E., 1978. Palla: a hereditary vertebral deformity in the guppy *Poecilia reticulata*, (pisces, osteichthyes). *Genetica*. 48, 197-200.

MAIR G., 1992. Caudal deformity syndrome (cds): an autosomal recessive lethal mutation in the tilapia, *Oreochromis niloticus*. *J. Fish Dis.* 15, 71-75.

MCKAY L., GJERDE B., 1986. Genetic variation for a spinal deformity in atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*. 52, 263-272.

ROSENTHAL H., ROSENTHAL R., 1950. Lordosis, a mutation in the guppy *Lebistes reticulatus*. *J. Heredity*. 41, 217-218.

SLOMINSKA I., JEZIEWSKA B., 2000. The effect of heavy metals on postembryonic development of common carp, *Cyprinus carpio* L. *Arch. Ryb. Pol.* Vol 8, 1: 119-128.

SORENSEN D.A., ANDERSEN S., GIANOLA D., KORSGAARD I., 1995. Bayesian inference in threshold models using Gibbs sampling. *Genet. Sel. Evol.* 27 pp. 229-249.

ESTUDIO DE CANALIZACIÓN EN UN EXPERIMENTO DE SELECCIÓN DIVERGENTE EN CONEJO

N. Ibáñez*, D. Sorensen**, R. Waagepetersen***, A. Blasco*

* Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica de Valencia, P.O. Box 22012. 46071 Valencia, Spain

** Department of Animal Breeding and Genetics, Danish Institute of Agricultural Sciences, PB 50, DK-8830 Tjele, Denmark

*** Departament of Mathematical Sciences, Aalborg University, 9229 Aalborg, Denmark

Introducción

La plasticidad fenotípica y la canalización son importantes en genética cuantitativa y en evolución. Ambos conceptos están relacionados con la sensibilidad ambiental. Una cuestión importante desde el punto de vista de la mejora genética es la relación del rendimiento de plantas o animales domésticos bajo ambientes homogéneos (a menudo asociados con sistemas de producción intensiva) o bajo condiciones ambientales muy variables. La sensibilidad ambiental puede definirse como los cambios que se producen en la media fenotípica de un genotipo en diferentes ambientes, o como las diferencias en la varianza residual de diferentes genotipos en el mismo ambiente (JINKS & POONI, 1988). Estas dos definiciones dan lugar a dos modelos estadísticos diferentes. En el primero, se asume que la expresión fenotípica de un genotipo determinado depende del tipo de ambiente al que esta expuesto.

En este estudio estamos interesados en la segunda interpretación de la sensibilidad ambiental. En este caso se han estudiado

varios modelos. Al principio se asumieron modelos donde la varianza residual decrecía con el número de loci heterocigotos (LERNER, 1954; LEWONTIN, 1964; ZHIVOTOVSKY & FELDMAN, 1992). Una extensión de estos postula que un número finito de loci tienen efectos pleiotrópicos en la media y en la varianza (GAVRILETS & HASTINGS, 1994). Recientemente, SAN CRISTOBAL-GAUDY *et al.* (1998) propuso un modelo infinitesimal con varianza residual con estructura genética. Este modelo es una generalización del clásico modelo infinitesimal usado en genética cuantitativa (FISHER, 1918). Con excepción del trabajo reciente de GARREAU *et al.* (2003) y SORENSEN & WAAGEPETERSEN (2003), hay pocos experimentos convincentes donde se evidencie el control genético de la varianza residual.

En este trabajo se presentan inferencias basadas en un modelo mixto normal con varianza ambiental heterogénea, que se ajusta a datos de capacidad uterina provenientes de un experimento de selección divergente en conejo. El trabajo tiene dos objetivos principalmente. El primero es investigar si existen efectos genéticos aditi-

vos afectando a la varianza ambiental, y si estos están correlacionados con los efectos genéticos que influyen en la capacidad uterina a nivel de la media. Nuestro segundo objetivo es comprobar si las predicciones de la respuesta a la selección basadas en el modelo clásico, son diferentes a las basadas en el modelo de varianzas heterogéneas. Los datos se han analizado utilizando métodos Bayesianos. Para analizar los datos con este modelo altamente parametrizado, hemos usado el algoritmo de Markov chain Monte Carlo (MCMC) con algún refinamiento (SORENSEN & WAAGEPETERSEN, 2003).

Material y métodos

Datos

Los datos corresponden a un experimento de selección divergente por capacidad uterina en conejo durante diez generaciones, llevado a cabo en la Universidad Politécnica de Valencia. Los animales utilizados en el experimento provienen de una línea sintética seleccionada por tamaño de camada en la granja experimental de la Universidad Politécnica de Valencia. La selección se realizó utilizando las estimas de los valores genéticos para el tamaño de camada. Los valores genéticos se estimaron mediante BLUP con un modelo aditivo de repetibilidad. La reproducción fue organizada en generaciones discretas. En cada línea se usaron aproximadamente 40 hembras y 12 machos por generación. El número de datos de la línea seleccionada por capacidad uterina alta y de la línea seleccionada por capacidad uterina baja fue aproximadamente el mismo.

Modelos

En este trabajo hemos utilizado dos modelos. El Modelo 1 es el clásico modelo aditivo de repetibilidad en el que la varianza ambiental es homogénea. El Modelo 2 es el modelo introducido por SAN CRISTOBAL-GAUDY *et al.* (1998), en el que se asume que condicionando en los vectores de localización y los parámetros de dispersión, el vector de los n fenotipos $y=(y_i)_{i=1}^n$ es Gaussiano:

$$y \sim N(\beta; \alpha; \pi; b^*; \alpha^*; \pi^*) \sim N(\Xi; \delta \alpha \gamma ((-^2 I)^n_{l=1}))$$

donde $\text{diag}((-^2 I)^n_{l=1})$ es la matriz diagonal con $-^2 I$ en la diagonal,

$$\Xi = (\alpha^2 I)^n_{l=1} = \Xi \beta + Z \alpha + \Omega \pi;$$

$$(\log -^2 I)^n_{l=1} = \Xi \beta^* + Z \alpha^* + \Omega \pi^*;$$

Los vectores β y β^* contienen los efectos asociados con el año estación (30 niveles) y el orden de parto (4 niveles), Ξ , Z y Ω son matrices de incidencia conocidas. Los vectores π y π^* contienen los efectos permanentes aleatorios (929 niveles) y se asume que son independientes con las distribuciones a priori

$$\pi \sim N(0, -^2 I_{\pi});$$

$$\pi^* \sim N(0, -^2 I_{\pi^*});$$

Los efectos genéticos (α ; α^*) se asumen Gaussianos

$$\begin{pmatrix} a \\ a^* \end{pmatrix} \sim N \left(\begin{pmatrix} 0 \\ 0 \end{pmatrix}, G \otimes A \right)$$

$$G = \begin{pmatrix} \sigma_a^2 & \rho \sigma_a \sigma_{a^*} \\ \rho \sigma_a \sigma_{a^*} & \sigma_{a^*}^2 \end{pmatrix}$$

donde A es la matriz de relaciones genéticas y ρ es el coeficiente de correlación genética.

En los análisis estadísticos hemos usado los métodos Bayesianos descritos en SORENSEN & WAAGEPETERSEN (2003), donde se pueden encontrar los detalles de los a priori asumidos para β , β^* , para los parámetros de la varianza $-\sigma^2\alpha$; $-\sigma^2\alpha^*$; $-\sigma^2\pi$; $-\sigma^2\pi^*$ y el coeficiente de correlación $|$. Las distribuciones posteriores son calculadas usando el algoritmo MCMC propuesto por SORENSEN & WAAGEPETERSEN (2003). El vector b se muestreó usando Gibbs update, los vectores (α, α^*) y (π, π^*) fueron reparametrizados con la intención de reducir sus correlaciones posteriores, y posteriormente se muestrearon usando Metropolis-Hasting con Langevin-Hastings proposal. También el vector β^* se muestreó usando Metropolis-Hasting con Langevin-Hastings proposal y los componentes de la log-varianza se muestrearon usando Metropolis-Hastings con random walk proposals.

Resultados y discusión

Los resultados de cada modelo se han calculado usando muestras MCMC obtenidas de 1.000.000 de iteraciones de los algoritmos mencionados anteriormente, descritos en SORENSEN & WAAGEPETERSEN (2003).

El cuadro 1 muestra las estimas Monte Carlo de las medias posteriores y de los intervalos posteriores al 95% de los componentes de varianza y la heredabilidad para cada modelo. Las estimas Monte Carlo de la media posterior de la varianza aditiva $-\sigma^2\alpha$ y de la heredabilidad h^2 (primer nivel de año estación y el cuarto de orden de parto) son mayores en el Modelo 2 que en el Modelo 1. Las estimas de las varianzas de los efectos permanentes son similares para los Modelos 1 y 2.

Las distribuciones marginales posteriores de $-\sigma^2\alpha$; $-\sigma^2\pi$; $-\sigma^2\alpha^*$, y $-\sigma^2\pi^*$ basados en el modelo 2 se representan en la figura 1. Las líneas continuas superpuestas en cada una de las figuras son las densidades de las distribuciones a priori, que corresponden a una chi-cuadrado invertida escalada con parámetros $\mathcal{K} = 4$ y $S=0.45$ (las cuatro figuras de la derecha) y a una chi-cuadrado invertida escalada con parámetros $\mathcal{K} = 4$ y $S=0.1$ (las cuatro figuras de la izquierda). En la figura 1 podemos observar que las distribuciones a priori estudiadas no influyen en las inferencias del modelo 2 para los parámetros $-\sigma^2\alpha$; $-\sigma^2\pi$; $-\sigma^2\alpha^*$, y $-\sigma^2\pi^*$.

La distribución marginal estimada en el Modelo 2 para el coeficiente de correlación $|$ se muestra en la figura 2. Los intervalos

Cuadro 1. Estimias Monte Carlo de las medias posteriores (primera fila de cada modelo) y los intervalos posteriores al 95% (segunda fila de cada modelo) de los componentes de varianza y la heredabilidad

Model	$-\sigma^2\alpha$	$-\sigma^2\pi$	$ $	$-\sigma^2\alpha^*$	$-\sigma^2\pi^*$	h^2
1	0.59	0.51	-	-	-	0.09
	0.32;0.86	0.28;0.8	-	-	-	0.05;0.15
2	0.82	0.44	-0.74	0.16	0.12	0.15
	0.48;1.28	0.20;0.72	-0.90;0.52	0.10;0.25	0.07;0.18	0.06;0.28

posteriores en el cuadro 1 y las distribuciones marginales estimadas para $-\alpha^*$ y $-\pi$ reflejan que hay valores genéticos aditivos afectando a la varianza ambiental y que estos están correlacionados negativamente con los valores genéticos aditivos que afectan a la capacidad uterina. Estos resultados coinciden con los obtenidos por SORENSEN & WAAGEPETERSEN (2003) utilizando el mismo modelo en datos de tamaño de camada en cerdo.

Las estimas posteriores están sujetas al error de Monte Carlo. Los intervalos de confianza para las medias de la posterior obtenidas en el Modelo 2 son $(0.78; 0.86) -\alpha$, $(0.42; 0.46) -\pi$, $(-0.76; -0.73) -\alpha^*$, $(0.15; 0.16) -\pi^*$. El error de Monte Carlo no altera las conclusiones obtenidas anteriormente. Para cada generación $j = 1, \dots, 12$ y línea $l = 1, 2, 3$ (población base, línea de capacidad uterina alta y línea de capacidad uterina baja), la figura 3 muestra las estimas de las medias y los cuantiles al 25% y 97.5% de la distribución posterior de $\bar{a}_{jl}$ para el Modelo 1 (derecha) y para el Modelo 2 (izquierda) donde

$\bar{a}_{jl}$ es la media posterior de los valores aditivos para cada generación j y línea l .

La figura 3 muestra una respuesta divergente para las medias de los valores aditivos de capacidad uterina, siendo la respuesta en el Modelo 2, sensiblemente menor que en el Modelo 1.

Los modelos se compararon mediante el cálculo del DIC (SPIEGELHALTER *et al.*, 2002), el DIC para el Modelo 1 fue 785 y para el Modelo 2 fue 768. El DIC da mayor credibilidad posterior al Modelo 2 (modelo de varianzas heterogéneas) que al Modelo 1 (modelo de varianzas homogéneas).

Conclusión

Este trabajo pone de evidencia que la varianza ambiental de la capacidad uterina en conejo esta en parte controlada genéticamente. Esta conclusión esta basada fundamentalmente en el criterio DIC (SPIEGELHALTER *et al.*, 2002). Además cabe mencionar que la distribución posterior de $|\pi|$ no contiene el

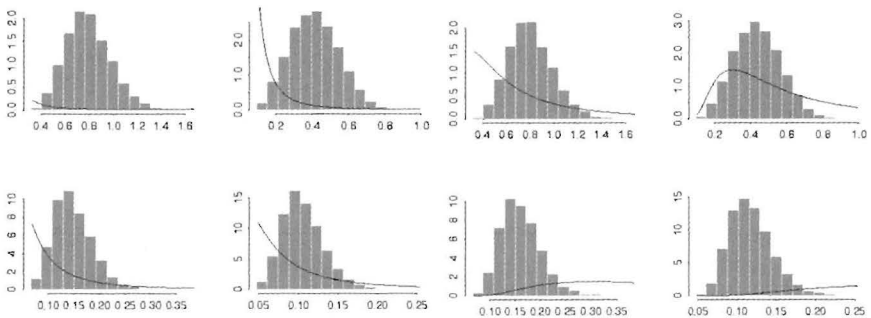


Figura 1: Estimaciones Monte Carlo de $-\alpha$ y $-\pi$ (arriba) y $-\alpha^*$ y $-\pi^*$ (abajo). La línea continua representa la densidad de las distribuciones a priori correspondientes a una $\mathcal{B}^2$ invertida escalada con parámetros $\alpha = 4$, $S = 0.45$ (derecha) y $\alpha = 4$, $S = 0.1$ (izquierda).

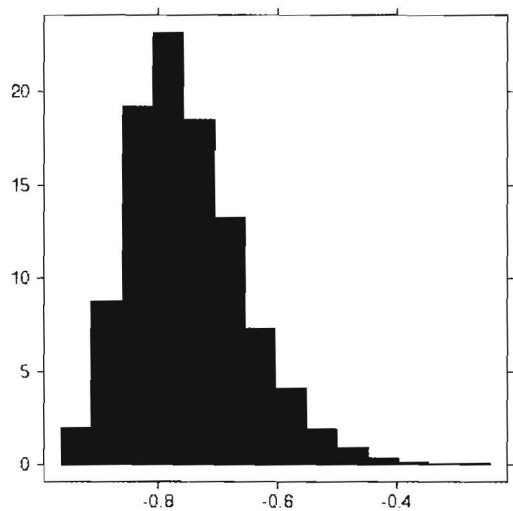


Figura 2: Distribución posterior de la marginal para β en el Modelo 2.

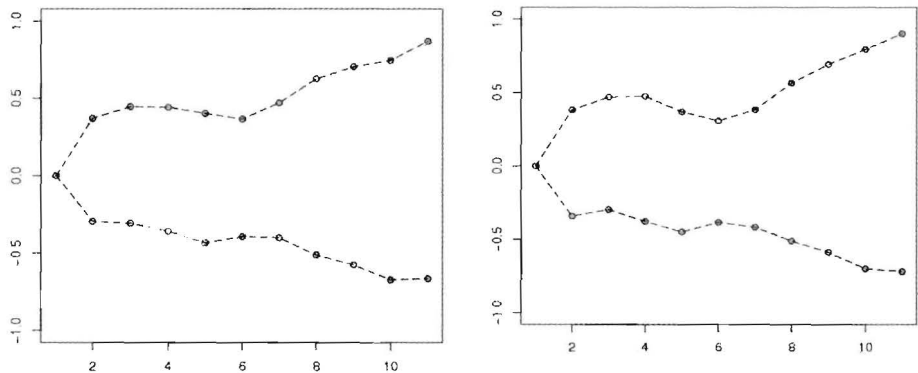


Figura 3: Estimaciones Monte Carlo de las medias de los valores aditivos para el Modelo 1 (derecha) y para el Modelo 2 (izquierda).

cero. Nuestros resultados indican que los valores genéticos aditivos que están afectando a la varianza ambiental están altamente y negativamente correlacionados con los valores genéticos aditivos que están afectando a la capacidad uterina.

Los resultados de las medias de los valores aditivos muestran en ambos modelos una respuesta a la selección divergente, siendo esta sensiblemente menor cuando se ajusta el Modelo 2.

Bibliografía

- FISHER R.A., 1918. The Correlation Between Relatives on the Supposition of Mendelian Inheritance. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 52, 399-433.
- GARREAU H., SANCRISTOBAL M., HURTEAU J., BODIN L., SALEIL G., BOLET G., 2003. Peut-on Sélectionner sur L'homogénéité Des Poids À la Naissance Au Sein D'une Portée? Résultats Préliminaires. In: *10èmes Journées de la Recherche Cunicole, Paris*.
- GAVRILETS S., HASTINGS A., 1994. A Quantitative Genetic Model for Selection on Developmental Noise. *Evolution*, 48, 1478-1486.
- JINKS J.L., POONI H.S., 1988. The Genetic Basis of Environmental Sensitivity. *Pages 505-522 of: Proceedings of the 2nd International Conference on Quantitative Genetics*.
- LERNER I.M., 1954. *Genetic Homeostasis*. Oliver and Boyd, Edinburgh.
- LEWONTIN R.C., 1964. The Interaction of Selection and Linkage. II Optimal Model. *Genetics*, 50, 757-782.
- SAN CRISTOBAL-GAUDY M., ELSÉN J.M., BODIN L., CHEVALET C., 1998. Prediction of the Response to a Selection for Canalisation of a Continuous Trait in Animal Breeding. *Genetics. Selection, Evolution*, 30, 423-451.
- SORENSEN D., WAAGEPETERSEN R., 2003. Normal Linear Models with Genetically Structured Residual Variance Heterogeneity: a Case Study. *Genetical Research*, 82, 207-222.
- SPIEGELHALTER D.J., BEST N.G., CARLIN B.P., VAN DER LINDE A., 2002. Bayesian Measures of Model Complexity and Fit (with Discussion). *Journal of the Royal Statistical Society Series B*, 64, 583-639.
- ZHIVOTOVSKY L.A., FELDMAN M.W., 1992. On the Difference Between Mean and Optimum of Quantitative Characters under Selection. *Evolution*, 46, 1574-1578.

ESTIMACIÓN DE COMPONENTES DE VARIANZA PARA CARACTERES BINARIOS DE FERTILIDAD EN EL VACUNO DE LECHE

O. González-Recio*, L.A. García-Cortés**, R. Alenda*

* Departamento de Producción Animal - E.T.S.I. Agrónomos (UPM).

** Departamento de Mejora Genética y Biotecnología. INIA. Madrid.

Introducción

La fertilidad es uno de los objetivos de selección que están adquiriendo más importancia en el vacuno de leche. Habitualmente se ha medido mediante caracteres continuos que indican intervalos y con caracteres umbrales referidos a tasas de preñez. Estos caracteres son principalmente la tasa de no retorno en un determinado periodo y el éxito de la inseminación. Según GROEN *et al.* (1998), la tasa de no retorno debería ser analizada en todos los países, para incluirla en una valoración internacional junto a otros indicadores de fertilidad. Esta evaluación internacional está prevista que se implemente dentro de pocos años (WALL *et al.*, 2003).

Los caracteres umbrales presentan problemas en la estimación de componentes de varianza mediante metodología lineal, puesto que contradicen algunos requisitos de los modelos lineales. Por esto, algunos autores (THOMPSON, 1979; GIANOLA, 1982) citan que la forma más apropiada de tratar estos caracteres es aplicar un modelo umbral mediante metodología bayesiana. El modelo macho se ha considerado habitualmente preferible al modelo animal (HOESCHELE y TIER, 1995), principalmente por el problema que se genera al tener grupos

de comparación pequeños en los efectos fijos o bien en los que todas las observaciones pertenecen a la misma categoría del carácter (GCE) (MORENO *et al.*, 1997). Es de esperar que aplicando un modelo animal con un adecuado tratamiento de los grupos de comparación se lleguen a los mismos resultados.

El objetivo de este trabajo es realizar una estimación de componentes de varianza para las tasas de no retorno a 56 y 90 días y para el éxito en la primera inseminación mediante metodología umbral con un modelo animal. De este modo analizar la viabilidad del modelo animal para caracteres umbrales e implementar posteriormente una estimación de correlaciones genéticas con otros caracteres de fertilidad cuya importancia económica haya sido estudiada (GONZÁLEZ-RECIO *et al.*, 2004). Con dichos resultados se podrá elaborar un índice de selección que tenga en cuenta una función de costes generados por la fertilidad y que incluya los caracteres más adecuados.

Material y métodos

Se utilizaron los datos históricos del control lechero hasta septiembre de 2003 y los

registros de inseminaciones artificiales desde 1986 de las comunidades autónomas del País Vasco y Navarra. Tras editar los archivos se trabajó con un total de 120.713 lactaciones y 225.085 registros de inseminaciones generados por 63.160 vacas. La genealogía estuvo constituida por 91.770 animales.

Los caracteres umbrales analizados fueron las tasas de no retorno a 56 (tnr56) y a 90 días (tnr90) y el éxito en la primera inseminación (EPIA).

Se aplicó un modelo umbral (GIANOLA, 1982), con una distribución subyacente continua para los valores genéticos. Dicha distribución se asumió normal y se fijaron valores arbitrarios para el umbral y la varianza del error ($t=0$, $\sigma_e^2=1$). Sobre la variable subyacente se aplicó un modelo animal para el análisis de componentes de varianza. Como efectos fijos se incluyeron la lactación-edad y el mes de parto. Los días a la primera inseminación fueron usados como covariable. Además se incluyeron los efectos aleatorios del rebaño-año de parto, efecto permanente, animal y el error. El rebaño-año de parto se analizó como aleatorio para paliar el problema de los niveles con pocas observaciones y de los GCE. Además, si en un grupo de rebaño-año todas las observaciones presentaban la misma categoría del carácter, este grupo se hizo móvil hasta un periodo de un año.

Se implementó un muestreo de Gibbs con metodología bayesiana usando lenguaje fortran 90, integrando la variable subyacente mediante un aumento de datos (SORENSEN *et al.*, 1995). Las varianzas se muestrearon de una ji cuadrado inversa. Los resultados fueron verificados con datos simulados.

Para simplificar la notación, se considerará sólo el modelo sobre la escala subyacente (λ), siendo el resto del análisis estándar (X , W_r , W_p , Z = Matriz de incidencia de los efectos fijos, rebaño-año, efecto permanente y animal, respectivamente; β , r , p , u , ε = estimas de los efectos fijos, rebaño-año, efecto permanente, aditivo y error, respectivamente).

$$\lambda = X\beta + W_r r + W_p p + Zu + \varepsilon$$

y se aplicó el teorema de Bayes:

$$p(\beta, r, p, u, \sigma_u^2, \sigma_p^2, \sigma_r^2 | y) \propto$$

$$p(y | \beta, r, p, u, \sigma_u^2, \sigma_p^2, \sigma_r^2) p(u | \sigma_u^2) p(p | \sigma_p^2) p(r | \sigma_r^2) p(\sigma_u^2) p(\sigma_p^2) p(\sigma_r^2)$$

La longitud de la cadena fue de 100.000 muestras, descartando las 10.000 primeras. A partir de este momento se guardaron las muestras cada diez iteraciones. En total se obtuvieron un total de 9.000 muestras por cada variable.

Se calculó el error de Monte Carlo de las distribuciones posteriores de la varianza genética y la heredabilidad de los tres caracteres, usando el tamaño efectivo de las mismas (GEYER, 1992)

Resultados y discusión

La incidencia y el porcentaje de niveles del Rebaño-año que fueron GCE se muestran en el cuadro 1, para cada carácter. Esta incidencia no fue extrema para ninguno de los caracteres, siendo la más alta para la tnr90, con un 80 % de observaciones en la categoría de preñez (1). También la tnr90 fue el carácter que presentó mayor porcentaje de GCE con un 21 %, a pesar de realizar los grupos móviles. La tnr56 y el EPIA presentaron menores porcentajes de GCE

(10 y 3% respectivamente). Por tanto la peor estructura de los datos se presentó para la tnr90, pero dentro de unas condiciones aceptables.

El cuadro 2 muestra la media, la mediana y la moda de las distribuciones posteriores para la heredabilidad y la repetibilidad de los caracteres analizados. Se estimó una heredabilidad media de 0.055, 0.060 y 0.039 para la tnr56, tnr90 y EPIA, respectivamente. Similares resultados se obtuvieron para la moda y la mediana, mostrando que las posteriores resultaron ser distribuciones normales. Los intervalos de confianza al 95 % de las heredabilidades fueron (0.042, 0.067) para la tnr56, (0.047, 0.073) para la tnr90 y (0.027, 0.052) para EPIA. HOEKSTRA *et al.* (1994) obtuvieron una heredabilidad de 0.04 para la tnr56. Similares resultados para EPIA se muestran en otros trabajos usando metodología lineal (HOEKSTRA *et al.*, 1994; PRYCE *et al.*, 1997) y umbral (KADARMIDEEN *et al.*, 2000). PETERSEN *et al.* (2002) estimaron heredabilidades algo superiores para la tnr90 y EPIA usando modelo umbral.

Se calculó el error de Montecarlo para la heredabilidad y varianza genética de todos los caracteres (cuadro 3). El tamaño efectivo de las cadenas de muestreo estuvo entre 12 y 20. A pesar de ser un tamaño efectivo pequeño, el error de Montecarlo

no fue elevado en ningún caso, tomando valores de 0.002.

La tnr90 presentó los valores del error de predicción más elevados para los valores genéticos (resultado no mostrado). Este resultado, unido a una peor estructura de los datos en cuanto a incidencia y GCE, no recomienda que sea el carácter escogido para implementar una valoración genética, a pesar de presentar la mayor heredabilidad. Los valores del error de predicción más bajos (resultados no mostrados) junto con la mejor estructura de los datos fueron para el EPIA. Sin embargo la tnr56 presentó mayor heredabilidad. Sería conveniente estudiar si alguno de estos dos caracteres debería ser incluido en las valoraciones internacionales en función de sus relaciones con otros caracteres.

Estos resultados muestran la viabilidad de aplicar un modelo animal a caracteres umbrales en vacuno de leche cuando se tratan los efectos y los problemas de comparación extrema adecuadamente. Estos resultados son preliminares a una estimación de componentes de varianza con un modelo animal multicarácter que permita combinar caracteres umbrales y lineales. De esta manera, y atendiendo a las recomendaciones internacionales, se podrá elaborar un índice de fertilidad que incluya los caracteres más adecuados para su posterior inclusión en un índice de funcionalidad.

Cuadro 1. Porcentajes de incidencia (I) y de grupos de comparación extremos (GCE) para cada uno de los caracteres analizados

	TNR56	TNR90	EPIA
I (%)	70	80	48
GCE (%)	10	21	3

Cuadro 2. Media, mediana y moda de las distribuciones posteriores de la varianza genética (σ^2_g), varianza del rebaño (σ^2_r), heredabilidad (h^2) y repetibilidad (r) de los caracteres analizados

	σ^2_g	σ^2_r	h^2	r
TNR56				
MEDIA	0.066	0.122	0.055	0.068
MEDIANA	0.066	0.122	0.055	0.067
MODA	0.071	0.121	0.055	0.070
TRN90				
MEDIA	0.077	0.198	0.060	0.070
MEDIANA	0.077	0.198	0.060	0.071
MODA	0.076	0.197	0.059	0.076
EPIA				
MEDIA	0.044	0.067	0.039	0.057
MEDIANA	0.046	0.067	0.040	0.058
MODA	0.039	0.067	0.033	0.059

Cuadro 3. Tamaño efectivo (TE) y error de Montecarlo (EMC) de las distribuciones posteriores de la varianza genética (σ^2_g) y la heredabilidad (h^2) de los caracteres analizados

	TNR56		TNR90		EPIA	
	σ^2_g	h^2	σ^2_g	h^2	σ^2_g	h^2
TE	16	15	20	17	12	12
EMC	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002

Bibliografía

GEYER C.J., 1992. Practical Markov chain Monte Carlo. Stat. Sci. 7: 473-511.

GIANOLA D., 1982. Theory and analysis of threshold characters. J. Animal Sci. 54: 1079-1096.

GONZÁLEZ-RECIO O., PÉREZ-CABAL M.A., ALENDA R., 2004. Economic Value of Female Fertility and its Relationship with Profit in Spanish Dairy Cattle. J. Dairy Sci. Aceptado.

GROEN A.F., SÖLKNER J., AUMANN J., DUCROCQ V., GENDLER N., STRANDBERG E., 1998. EU Concerted Action. Genetic Improvement of Functional Traits in cattle. Interbull, bull. No. 19: 9-18.

HOEKSTRA J., VAN DER LUGT A.W., VAN DER WERF J.H.J., OUWELTJES W., 1994. Genetic and phenotypic parameters for milk production and fertility traits in upgraded dairy cattle. Livestock Prod. Sci. 40(3): 225-232.

HOESCHELE I., TIER B., 1995. Estimation of variance components of threshold characters by marginal posterior modes and means via Gibbs sampling. Genet. Sel. Evol. 27: 519-540.

- KADARMIDEEN H.N., THOMPSON R., SIMM G., (2000). Linear and Threshold Model Genetic Parameters for Disease, Fertility and Milk Production in dairy cattle. *Animal Science* 71: 411-419
- MORENO C., SORENSEN D., GARCÍA-CORTES L.A., VARONA L., ALTARRIBA J., 1997. On biased inferences about variances components in the binary threshold model. *Genet. Sel. Evol.* 29: 145-160.
- PETERSEN T., STANER E., JUNG W., REINSCH N., KALM E., 2002. Genetic analysis of fertility disease traits and their relationship to reproduction traits in dairy cattle. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Montpellier (France). Communication 01-17.
- PRYCE J.E., VEERKAMP R.F., THOMPSON R., HILL W.G., SIMM G., 1997. Genetic Aspects of common disorders and measures of fertility in Holstein Friesian dairy cattle. *Animal Science* 63: 353-360.
- SORENSEN D., ANDERSEN S., GIANOLA D., KORSGAAD I., 1995. Bayesian inference in threshold model using Gibbs sampling. *Genet. Sel. Evol.* 27: 229-249.
- THOMPSON R., 1979. Sire evaluation. *Biometrics* 35: 339-353.
- WALL E., BROTHERSTONE S., WOOLLIAMS J.A., BANOS G., COFFEY M.P., 2003. Genetic Evaluation of Fertility using Direct and Correlated Traits. *J. Dairy Sci.* 86: 4093-4102.

ANÁLISIS BAYESIANO SOBRE EL DETERMINISMO GENÉTICO DE LA TASA DE CRECIMIENTO DE LAS PEZUÑAS EN PORCINO

R. Quintanilla, L. Varona, J.L. Noguera

Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA. Rovira Roure
191, 25198 Lleida

Introducción

El crecimiento excesivo y la consiguiente deformidad de las pezuñas es una anomalía frecuentemente observada en algunas poblaciones porcinas, planteando importantes problemas de manejo. La apreciación de una mayor incidencia de este fenómeno en determinadas familias podría indicar la existencia de un componente de origen genético. En el caso del vacuno, donde la morfología de los aplomos ha sido ampliamente estudiada por su relación con la longevidad, algunos autores han estimado heredabilidades medias para caracteres como la longitud de las pezuñas (*e.g.* CHOI y MCDANIEL, 1993). En la bibliografía no existe sin embargo ninguna referencia al determinismo genético del crecimiento de las pezuñas en porcino.

La presencia o ausencia de un componente genético en el crecimiento anormal de las pezuñas puede ser contrastada mediante técnicas de comparación de modelos. Dentro del paradigma bayesiano, la comparación de modelos se realiza mediante el cálculo de la probabilidad posterior de cada modelo dadas las observaciones fenotípicas. Si se asume *a priori* la equiprobabilidad de los modelos candidatos, la comparación de modelos se circunscribe al cálculo del Factor de Bayes (KASS and RAFTERY,

1995). Recientemente se ha desarrollado un procedimiento para el cálculo de Factores de Bayes en modelos jerárquicos (GARCÍA-CORTÉS *et al.*, 2001; VARONA *et al.*, 2001).

El objetivo de este trabajo es analizar el determinismo genético de la tasa de crecimiento de las pezuñas en tres poblaciones de selección mediante el cálculo de Factores de Bayes.

Material y métodos

Los datos disponibles consistieron en la tasa de crecimiento de las pezuñas de cerdas pertenecientes a tres poblaciones de selección, que denotaremos A, B y C. La tasa de crecimiento de las cerdas se registró mediante puntuación en distintos momentos de su vida reproductiva. Los animales se clasificaron en cuatro categorías, de acuerdo con la tasa de crecimiento de las pezuñas. Finalmente se dispuso de 561, 183 y 225 registros de las tasas de crecimiento de las pezuñas para las líneas A, B y C respectivamente.

La respuesta en tasa de crecimiento de las pezuñas (categorías de 1 a 4) se modelizó con una aproximación probit:

$$f(y | T) = \prod_{i=1,n} f(y_i | T_i)$$

$$= \prod_{i=1,n} \lambda(T_i < t_1) \lambda(T_i = 1) + \lambda(t_1 < T_i < t_2) \lambda(y_i = 2) + \lambda(t_2 < T_i < t_3) \lambda(y_i = 3) + \lambda(t_3 < T_i) \lambda(y_i = 4)$$

donde T es la distribución normal subyacente, y t_1 , t_2 y t_3 son los umbrales que definen la categoría de respuesta.

El modelo asumido para la variable subyacente (T) variará en los dos modelos candidatos. De este modo:

- en el modelo con variabilidad genética (modelo 1) $T = X\beta + Zu + e$

- en el modelo sin variabilidad genética (modelo 2) $T = X\beta + e$

donde β son los efectos sistemáticos (en este caso granja y número de ciclo del animal), u el vector de efectos genéticos aditivos, e el vector de efectos residuales, y X y Z son las matrices de incidencia que relacionan los efectos fijos y aleatorios con los datos.

La distribución asumida para los efectos genéticos aditivos fue $u \sim N(0, A\sigma_u^2)$, donde A es la matriz de correlaciones aditivas y σ_u^2 la varianza genética aditiva. Finalmente $e \sim N(0, I\sigma_e^2)$, siendo σ_e^2 la varianza residual e I la matriz identidad.

El modelo para la variable subyacente en el modelo con variabilidad genética (modelo 1) puede ser reparametrizado cómo:

$T = X\beta + e^*$, donde $e^* = Zu + e$ y consecuentemente $e^* \sim N(0V)$, siendo

$$V = ZAZ'\sigma_u^2 + I\sigma_e^2 = \sigma_p^2 (ZAZ'h^2 + I(1 - h^2))$$

donde σ_p^2 es la varianza total subyacente y por tanto h^2 sería la heredabilidad subyacente de la tasa de crecimiento de las pezuñas ($h^2 = \sigma_u^2 / \sigma_p^2$).

Para el modelo con variabilidad genética, las observaciones, las variables subyacentes

y los parámetros tienen la siguiente distribución conjunta:

$$p_1(y, T, t_1, t_2, t_3, \beta, \sigma_p^2, h^2)$$

$$\propto p_1(y | T, t_1, t_2, t_3, \beta, \sigma_p^2, h^2) p_1(T | \beta, \sigma_p^2, h^2) p_1(\beta) p_1(\sigma_p^2) p_1(h^2) p_1(t_2) p_1(t_3)$$

donde el valor del primer umbral ha sido fijado a cero, i.e.:

$$p_1(t_1) = 1 \text{ si } t_1 = 0; \text{ si no } p_1(t_1) = 0.$$

y los *a priori* asumidos para el resto de parámetros son:

$$p_1(\beta) = k_1 \text{ si } \beta \in \left[-\frac{1}{2k_1}, \frac{1}{2k_1}\right];$$

si no $p_1(\beta) = 0$;

$$p_1(\sigma_p^2) = k_2 \text{ si } \sigma_p^2 \in \left[0, \frac{1}{k_2}\right];$$

si no $p_1(\sigma_p^2) = 0$;

$$p_1(h^2) = 1 \text{ si } h^2 \in [0, 1];$$

si no $p_1(h^2) = 0$;

$$p_1(t_2) = k_3 \text{ si } t_2 \in \left[0, \frac{1}{k_3}\right];$$

si no $p_1(t_2) = 0$;

$$p_1(t_3) = k_4 \text{ si } t_3 \in \left[0, \frac{1}{k_4}\right];$$

si no $p_1(t_3) = 0$;

siendo k_1 , k_2 , k_3 y k_4 valores suficientemente elevados para incluir el rango de posibles valores de los parámetros, asegurando la propiedad de las distribuciones *a priori*.

De acuerdo con GARCÍA-CORTÉS *et al.* (2001) y VARONA *et al.* (2001), el Factor de Bayes del modelo con heredabilidad

(modelo 1) frente al modelo sin variabilidad genética (modelo 2) es:

$$BF = \frac{p_1(h^2 = 0)}{p_1(h^2 = 0 | I)} = \frac{1}{p_1(h^2 = 0 | I)},$$

dado que $p_1(h^2 = 0) = 1$

Tal y como fue puesto de manifiesto por estos autores, la obtención del Factor de Bayes sólo requiere el análisis con el modelo más complejo (en este caso el modelo con efectos genéticos aditivos). El análisis bayesiano del modelo 1 se realizó mediante muestreo de Gibbs (GELFAND and SMITH, 1990) con el algoritmo Metropolis-Hasting (HASTINGS, 1970) para muestrear la heredabilidad. Para cada análisis se realizaron un total de 25000 iteraciones después de descartar las 5000 primeras. La convergencia se comprobó mediante el algoritmo de RAFTERY and LEWIS (1992).

Resultados y discusión

Los resultados correspondientes al análisis Bayesiano con el modelo con variabili-

dad genética sobre los datos de crecimiento de las pezuñas en las tres poblaciones se muestran en el cuadro 1. Puede apreciarse que, en los tres casos, el Factor de Bayes entre los modelos con y sin heredabilidad tomó valores muy superiores a la unidad (321, 16 y 46, con probabilidades posteriores para el modelo con variabilidad genética de 0.99, 0.98 y 0.94 respectivamente). A pesar de haber realizado el análisis con un tamaño de muestra limitado, estos resultados indican que el modelo con variabilidad genética es altamente más probable que el modelo sin determinismo genético.

El cuadro 1 muestra también los estadísticos descriptivos de la distribución marginal posterior de la heredabilidad subyacente para la tasa de crecimiento de las pezuñas en las tres poblaciones de selección analizadas; dicha distribución se representa asimismo en la figura 1. Los estimadores posteriores de la heredabilidad obtenidos con el modelo 1, tanto la media como la moda, tomaron en las tres líneas valores de medios a elevados (entre 0.24 a 0.41), con desviaciones estándar posteriores entre 0.08 y 0.16, por lo que la región de alta densidad posterior para la heredabilidad no incluye el cero.

Cuadro 1. Factor de Bayes entre los modelos con y sin heredabilidad, estadísticos descriptivos de la distribución marginal posterior de la heredabilidad subyacente, y estimadores posteriores para el segundo y tercer umbrales (el primer umbral t_1 se fijó a 0 en todos los casos) obtenidos en el análisis con el modelo con variabilidad genética (modelo 1)

	Línea A	Línea B	Línea C
Factor de Bayes (Probabilidad posterior mod. 1)	321.6 (0.99)	16.5 (0.98)	46.1 (0.94)
Media posterior de h^2	0.25	0.41	0.38
Moda posterior de h^2	0.24	0.40	0.36
Desviación Estándar posterior de h^2	0.08	0.16	0.13
Umbral t_2	1.31 (0.08)	1.62 (0.16)	1.55 (0.12)
Umbral t_3	2.24 (0.10)	2.42 (0.20)	2.12 (0.16)

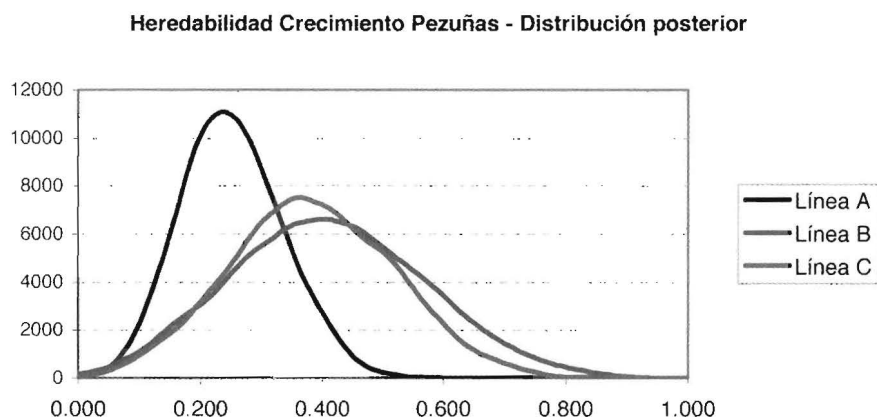


Figura 1. Distribución posterior de la heredabilidad subyacente para la tasa de crecimiento de las pezuñas en las tres poblaciones de selección analizadas.

En función de estos resultados podemos concluir que el carácter crecimiento de las pezuñas tiene un importante determinismo genético en las tres poblaciones analizadas. Estos resultados serían la primera evidencia de un componente genético para este carácter en porcino, e indican la posibilidad de seleccionar en contra del crecimiento de las pezuñas en aquellas poblaciones en las que la deformidad de las uñas plantea problemas de manejo y limita en consecuencia la longevidad de los reproductores.

Bibliografía

- CHOI Y.S., MCDANIEL B.T., 1993. Heritabilities of measures of hooves and their relation to other traits of Holsteins. *Journal of Dairy Science* 76: 1989-1993.
- GARCÍA-CORTÉS L.A., CABRILLO C., MORENO C., VARONA L., 2001. Hypothesis testing for the genetical background of quantitative genetics. *Genet. Sel. Evol.* 33: 3-16.
- GELFAND, A., SMITH A.F.M., 1990. Sampling based approaches to calculating marginal densities. *J. Am. Stat. Assoc.* 85: 398-409.
- HASTINGS W.K., 1970. Monte Carlo sampling methods using Markov Chains and their applications, *Biometrika.* 82: 711-732.
- KASS R.E., RAFTERY A.E., 1995. Bayes Factors. *J. Am. Stat. Assoc.* 90: 773-795.
- LAVINE M., SCHERWISH M.J., 1998. Bayes Factors: What they are and what they are not. *Am. Stat.* 53: 119-122.
- RAFTERY, A.E., LEWIS S.M., 1992. How many iterations in the Gibbs Sampler?. In: J.M. Bernardo, J. O. Berger, A. P. Dawid and A.F.M. Smith. (Ed). *Bayesian Statistics IV*. pp. 763-774. Oxford Univ. Press.
- VARONA, L., GARCÍA-CORTÉS L.A., PÉREZ-ENCISO M., 2001. Bayes Factor for detection of Quantitative Trait Loci. *Genet. Sel. Evol.* 33: 133-152.

UTILIZACIÓN DE MARCADORES MICROSATÉLITES INTRAESPECÍFICOS E INTERESPECÍFICOS EN POBLACIONES NATURALES DE DORADA

V. Oliva, M.J. Zamorano, A. Navarro, R. Ginés, N. Astorga,
J.M.Afonso

Dpto. Patología Animal, Producción Animal, Bromatología y
Tecnología de los alimentos

Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran
Canaria. Trasmontaña s/n. 35416- Arucas (LAS PALMAS)

voliva@becarios.ulpgc.es

Introducción

En los últimos diez años la producción mediterránea en acuicultura de las dos especies más cultivadas (dorada y lubina), ha pasado de ser de unas 3.876 Tn hasta alcanzar las 130.000 Tn. Dicha producción está cubierta en su 90% por tan sólo cuatro países Grecia, Turquía, Italia y España. La producción de dorada, para la que España ocupó el tercer lugar en el año 2002 (FEAP 2004), sigue creciendo aunque atraviesa un período de crisis debido a que los precios medios están a la baja.

A pesar de los niveles de producción de dorada y sus expectativas, las empresas de cultivo presentan un escaso estado de desarrollo desde el punto de vista genético, tanto por la manera en que suelen establecer sus reproductores, a partir de individuos de poblaciones naturales, como desde el desconocimiento que poseen, en la mayoría de los casos, de las relaciones de parentesco de dichos reproductores, lo que se agrava por el escaso censo efectivo que suelen utilizarse debido a la alta fecundidad que presentan las especies. Con ello, la producción de alevines está todavía lejos de ser individuos mejora-

dos genéticamente. Por esta razón, los principales objetivos de este estudio son:

1. Conocer la variabilidad genética existente en poblaciones naturales de dorada utilizando algunos marcadores descritos para distintas especies de espáridos.
2. Proponer un panel de marcadores microsatélites intra e interespecíficos que pueda ser útil en el estudio de las relaciones de parentesco en las empresas de acuicultura de dorada.

Material y métodos

El estudio se ha realizado en un total de 146 muestras procedentes de siete poblaciones naturales de dorada. Tres de ellas del océano Atlántico y mar Cantábrico y las cuatro restantes del mar Mediterráneo. La distribución del tamaño de muestra fue: Cantábrico N = 29, Huelva N = 7, Noroeste de África N = 16, Castellón N = 27, Valencia N = 16, Israel N = 18 y Turquía N = 33.

Los marcadores microsatélites utilizados fueron: seis intraespecíficos para dorada pre-

viamente descritos por BATARGIAS *et al.* (1999) y el resto interespecíficos descritos en otros espáridos, cinco en *Pagrus major* (TAKAGI *et al.*, 1997), ocho en *Pagrus auratus* (ADCOCK *et al.*, 2000) y diez en *Pagellus bogaraveo* (STOCKLEY *et al.*, 2000). En total se utilizaron un total de 29 marcadores microsatélites. Se tomó como tejido un trozo de aleta que era conservada en 1 ml de etanol absoluto hasta su procesamiento. La extracción de ADN se realizó mediante el método del fenol-cloroformo (SAMBROOK *et al.*, 1989), resuspendiéndose en 50ml de TE y conservándose a 4 °C.

Los microsatélites fueron amplificados en un termociclador *i-Cycler* (Bio-Rad) adaptando las condiciones descritas por los autores mediante barridos para la temperatura de hibridación y la concentración de cloruro de magnesio. Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa para confirmar las condiciones óptimas de amplificación. Una vez amplificados, los productos de amplificación fueron separados en electroforesis vertical en geles de poliacrilamida al 6% y los alelos fueron visualizados mediante tinción de plata.

El nivel de variabilidad se estimó mediante el cálculo de las frecuencias alélicas, número medio de alelos por *locus*, heterocigosidades observada y esperada. Además, se estimó la probabilidad de exclusión (PE) y probabilidad combinada de exclusión (PEC) (JAMIESON, 1994).

La estructura genética de la poblaciones fue inferida mediante análisis de varianza (AMOVA) (EXCOFFIER *et al.*, 1992), y el análisis estadístico se realizó con el programa ALERQUIN ver. 2000 (SCHNEIDER *et al.*, 2000).

Resultados y discusión

De los 29 marcadores estudiados, un total de trece fueron amplificados en dorada. De éstos, aquellos pertenecientes a la misma especie fueron polimórficos en todos los casos. Sin embargo, en el caso de los marcadores interespecíficos descritos para *Pagrus major*, *Pagrus auratus* y *Pagellus bogaraveo*, sólo fueron polimórficos dos, uno y tres, respectivamente.

De los marcadores específicos de dorada (BATARGIAS *et al.*, 1999), no fueron tenidos en cuenta para el estudio los marcadores SaGT41a, por presentar gran dificultad en la lectura sobre gel, y SaGT31, por su escaso nivel de polimorfismo, sólo 4 alelos diferentes.

En relación a los marcadores interespecíficos, las condiciones de temperatura de hibridación y cloruro de magnesio idóneas para ser legibles en dorada, se recogen en el cuadro 1.

En cuanto a la variabilidad genética hallada en las distintas poblaciones, el número medio de alelos fue de $22,3 \pm 1,22$. Así, el número de alelos que se ha observado oscila entre los 16 para el Pma2b y los 28 para SaGT1, si se considera el total de la muestra.

Por población el número medio de alelos fue de 8 para la población de Huelva hasta 16 para la de Turquía, si bien el tamaño de la muestra puede estar influyendo en este último dato, ya que para la población de Huelva tan sólo se pudieron conseguir 7 individuos (cuadro 2).

Considerando la distribución de frecuencias alélicas, en el caso del marcador SaGT26 el alelo más frecuente fue el 225 en todas las poblaciones excepto en Turquía en la que el alelo más frecuente fue el 237 y en

Cuadro 1. Condiciones de amplificación de los marcadores microsatélites interespecíficos estudiados

Locus	Tª hibridación	[Cl ₂ Mg]	Especies
Pma1	57.6°	2mM	<i>Pagrus major</i>
Pma2b	61.4°	3.5mM	<i>Pagrus major</i>
Pma5	59.3°	2.5mM	<i>Pagrus major</i>
PaGA2a	62°	2.5mM	<i>Pagrus auratus</i>
PbMS2	62°	2mM	<i>Pagellus bogaraveo</i>
PbMS6	57°	2mM	<i>Pagellus bogaraveo</i>
PbMS16	57°	2mM	<i>Pagellus bogaraveo</i>

Cuadro 2. Número de alelos por población y locus

Locus	Número de Alelos por población							Total
	Castellón	Valencia	Huelva	Israel	Cantábrico	Turquía	NO África	
SaGt26	17	13	8	12	15	12	8	24
SaGt1	25	20	10	13	22	24	16	28
SaGt41b	18	13	8	14	17	16	16	23
SaGT32	16	15	8	7	16	14	12	20
PaGA2a	15	10	9	6	11	14	10	22
Pma2b	12	12	7	9	12	13	12	16
Pma1	19	15	10	14	22	20	15	27
PbMS2	13	11	6	8	12	12	10	17
PbMS6	14	7	7	16	15	21	16	24
PbMS16	14	15	10	14	13	19	15	22
Promedio	16,3±1,2	13,1±1,1	8,3±0,4	11,3±1,1	15,5±1,1	16,5±1,3	13±0,9	2,3±1,2

la población de Israel para la que el alelo más frecuente fue el 255. Se han observado alelos exclusivos de las poblaciones de Valencia y Castellón aunque no se han encontrado diferencias significativas entre poblaciones. Para el marcador SaGT1 el rango de alelos oscila entre 94 y 182 siendo el alelo más frecuente el 138, coincidiendo nuevamente que en las poblaciones de Valencia y Castellón aparecen alelos exclusivos. El marcador SaGT41b también presentó alelos raros en las poblaciones de África y Valencia. Para el marcador PaGA2a el alelo más frecuente en todas las poblaciones fue el 116.

La heterocigosidad media observada fue de 0,869, si no se consideran los marcadores monomórficos en cuyo caso el nivel de heterocigosidad bajó a 0,79. El análisis molecular de la varianza puso de relieve que el 98,23 % de la varianza total es debida a diferencias genéticas dentro de poblaciones y no entre éstas. Utilizando exclusivamente marcadores microsatélites intraespecíficos, las estimas del presente estudio están en concordancia con las determinadas en otras poblaciones naturales y de cultivo (BATARGIAS *et al.*, 1999; ALARCÓN *et al.*, 2004), 0,88 y 0,86-0,87 respectivamente.

En relación con el segundo de los objetivos, para establecer el panel de marcadores que fuese fácilmente utilizable para conocer las relaciones de parentesco en las empresas de cultivo, se ha considerado el nivel de polimorfismo del marcador, la facilidad para tipificar el patrón de bandas y la posibilidad de realizar cargas múltiples en un

mismo gel. Los marcadores que resultaron más idóneos y sus características se recogen en el cuadro 3, siendo tres intraespecíficos (SaGT1, SaGT32, SaGt41b) y tres interespecíficos (PbMS2, PbMS16, PaGA2a). Al estimar la PEC para los 6 marcadores propuestos esta resultó del 99,99% señalando su utilidad en el control de genealogías.

Cuadro 3. Marcadores propuestos en la confirmación de relaciones de parentesco

Locus	Número de alelos	Rango alélico	Tipificación	Ho	Número de cargas	PE
SaGt41b	23	142-190	Muy fácil	0,909	Tres	0,863
PbMS2	17	126-160	Muy fácil	0,873	Tres	0,744
PaGA2a	22	102-146	Muy fácil	0,782	Dos	0,665
PbMS16	22	142-184	Fácil	0,946	Dos	0,866
SaGT32	20	140-186	Fácil	0,801	Dos	0,833
SaGT1	18	94-182	Fácil	0,887	Una	0,899

Conclusiones

Se puede concluir que la mayor parte de las diferencias existentes entre *stocks* naturales de dorada están dentro de poblaciones, no siendo significativas las diferencias entre las poblaciones. Por otro lado, que con un panel de marcadores microsatélites constituido por sólo 6 marcadores (inter e intraespecíficos) es posible obtener una probabilidad de exclusión combinada lo suficientemente elevada como para reconocer las relaciones familiares en dorada.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por el Gobierno de Canarias, PI2001 /063 y PI2002/212.

Bibliografía

ADCOCK G.J., BERNAL RAMÍREZ J.H., HAUSER L., SMITH P., CARVALHO G.R., 2000. Screening of DNA polymorphisms in samples of archived scales from New Zealand snapper. *J. Fish Biology*. 56 (5), 1283-1287.

ALARCÓN J., MAGOULAS, A., GEORGAKOPOULOS T., ZORROS E., ÁLVAREZ M.C., 2004. Genetic comparison of wild and cultivated European populations of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 230 65-80.

BATARGIAS C., DERMITZAKIS E., MAGOULAS A., ZOUROS E., 1999. Characterization of six polymorphic microsatellite markers in gilthead seabream, *Sparus aurata*. (Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology*. 8: 897-898.

EXCOFFIER L., SMOUSE P., QUATRO J., 1992. Analysis of molecular variante inferred from metric distance among DNA haplotypes : Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.

- FEAP, 2004: Federación Europea de Productores de Acuicultura. <http://www.feap.org>.
- JAMENSON A., 1994. The effectiveness of using codominant polymorphic allelic series for (1) checking pedigrees and (2) distinguishing full-sib pair members. *Anim. Genet.*, 25: 37-44.
- SAMBROOK J., FRITSCH E.F., MANIATIS T., 1989. In molecular cloning: a laboratory Manual. 2° Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor. New York.
- SCHNEIDER S., ROESLLI D., EXCOFFIER L., 2000. Arlequin 2000.
- STOCKLEY B.M., ROGERS A.D., IYENGAR A., MENEZES G., SANTOS R., LONG A., 2000. Ten microsatellite loci isolated and developed for the blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* (Brunnich 1768). *Mol Ecol.*;9(7): 999-1000.
- TAKAGI M., TANIGUCHI N., COOK D., DOYLE R.W., 1997. Isolation and characterization of microsatellite loci from red sea bream *Pagrus major* and detection in closely related species. *Fish. Sci.*,63 (2): 199-204.

COMPARACIÓN ENTRE DISTINTOS MODELOS DE CORRELACIÓN ENTRE EFECTOS ASOCIADOS A MARCADORES

W. Mekkawy*, A. Blasco*, L. Varona**

* Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia. 46071. Valencia

** Area de Producció Animal. Centre UdL-IRTA. 25198. Lleida

Introducción

Los procedimientos más utilizados para la detección de QTL en mejora animal suelen ser modelos de regresión del fenotipo al genotipo en cada localización a lo largo del genoma (HALEY *et al.*, 1994). Recientemente, GIANOLA *et al.* (2003) han propuesto un modelo, que, desde un punto de vista bayesiano, trata los coeficientes de regresión como efectos aleatorios. Este modelo permite el análisis conjunto de todos los marcadores del genoma simultáneamente, evitando así las dificultades asociadas con el testaje múltiple y la posible inclusión de cofactores.

A su vez, GIANOLA *et al.* (2003) sugieren utilizar procedimientos que incluyen correlaciones entre los efectos de los QTL asociados a marcadores que pertenezcan a un mismo cromosoma. Según estos autores, estas correlaciones pueden ser definidas en función de la distancia genética entre los marcadores. Entre otros procedimientos, proponen un modelo de decremento Gaussiano que ajusta la caída de correlaciones entre marcadores según la siguiente expresión:

$$\lambda_{i,kt} = \exp\left(-\frac{d_{i,kt}^2}{\rho_i^2}\right)$$

Donde $\lambda_{i,kt}$ es la correlación entre los marcadores k y t en el cromosoma i. Esta correlación es 1 cuando la distancia entre marcadores es 0 y disminuye hasta la ausencia de correlación cuando la distancia tiende a infinito, $d_{i,kt}$ es la distancia entre los marcadores k y t en el cromosoma i expresada en cM, y ρ_i es el parámetro que controla la disminución de la correlación a medida que aumenta la distancia entre los marcadores. Cuando ρ_i toma un valor cercano a 0, las correlaciones disminuyen a gran velocidad, mientras que cuando ρ_i es mayor las correlaciones caen más lentamente (figura 1).

El objetivo de este trabajo es comparar este modelo de decremento Gaussiano de la correlación con un modelo que asuma independencia entre los efectos asociados con los marcadores moleculares.

Material y métodos

Se han simulado poblaciones F_2 de mil individuos, genotipados para 20 marcadores fijados en las poblaciones parentales, y asociados con efectos aditivos que se muestrearon a partir de distribuciones normales. Los marcadores se distribuyeron uniformemente a lo largo de 4 grupos de ligamiento (5 marcadores en cada uno). La media fenotípica

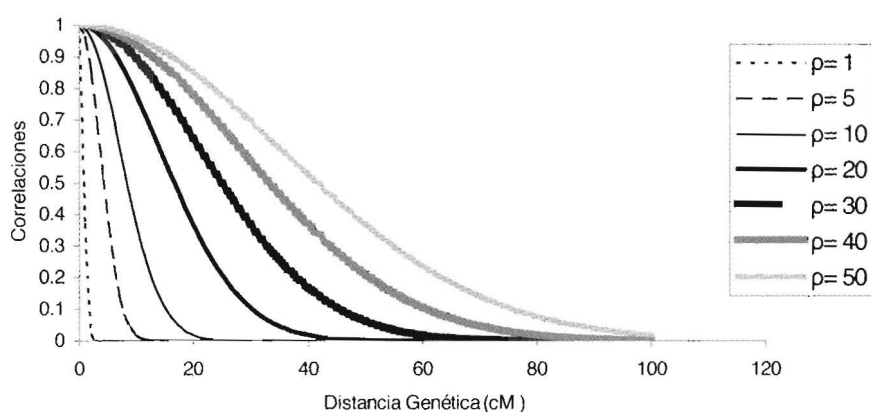


Figura 1. Correlación entre efectos asociados a marcadores en relación a ρ y la distancia genética (d).

simulada fue 100 unidades y la varianza residual de 100 unidades al cuadrado.

Se han generado 6 casos de simulación dependiendo de las distancias genéticas entre marcadores (5, 10 y 20 cM), y de la distribución utilizada para muestrear los QTL $-N(0,1)$ y $N(0,2)-$, respectivamente. Para cada uno de los casos de simulación se generaron 100 réplicas.

Para realizar el análisis se utilizó el modelo propuesto por GIANOLA *et al.* (2003) con diferentes alternativas:

1. Asumiendo independencia entre marcadores.
2. Utilizando un modelo de decremento gaussiano, condicionado al valor de ρ , $\rho=1,10,20,30,40$ y 50.
3. Usando el mismo modelo, pero con ρ como parámetro del modelo, y utilizando una prior acotada entre 0 y 50.

Los datos simulados se analizaron mediante MCMC. Para cada modelo, se calcularon el DIC (Deviance Information Criteria), tal y como propone SPIEHLHALTER *et al.* (2002), y la correlación entre las medias

posteriores de los efectos de los QTL y los valores simulados.

Resultados y discusión

En el cuadro 1 se muestran los DICs medios obtenidos en cada caso de simulación. En este cuadro se puede observar que el modelo que no tuvo en cuenta la correlación entre marcadores obtuvo el valor más bajo de DIC, indicando que es el modelo que mejor predeciría una futura réplica de los datos. Por otra parte, en el cuadro 2 se muestran las correlaciones entre los valores simulados y estimados de los QTL para los diferentes casos de simulación y modelos de análisis. Aquí se puede observar la completa coincidencia con el cuadro 1, ya que los modelos que tienen menor DIC tienen mayores correlaciones entre los valores simulados y estimados de los QTL.

Como conclusión, los modelos que incluyen las correlaciones entre efectos asociados a los marcadores no han mejorado las estimas de los efectivos aditivos de los QTL. Los QTL se simulaban independien-

tes entre sí, y aunque existe co-linealidad entre los estimadores, la introducción en el modelo de una estructura de correlaciones entre marcadores o posiciones del genoma no soluciona este problema.

Cuadro 1. Deviance Information Criteria (DIC) para los diferentes modelos de análisis y casos de simulación

Distribución	Normal (0,1) Distancias genéticas			Normal (0,2) distancias genéticas		
	5	10	20	5	10	20
Modelos						
$\rho=1$	7449,8916	7451,7471	7453,6876	7454,1511	7455,6052	7457,0847
$\rho=10$	7450,8342	7452.1026	7453,6827	7459,0844	7456,1891	7457,0847
$\rho=20$	7451,2960	7454,1204	7454,1005	7463,4508	7462,5865	7457,5569
$\rho=30$	7484,5445	7455,3504	7455,9109	7475,6978	7467,9227	7460,5899
$\rho=40$	7529,9252	7455,9664	7457,8003	7751,7296	7471,2825	7465,8056
$\rho=50$	7530,2337	7459,8136	7458,9563	7753,0911	7474,0754	7470,1625
$\rho=\text{aleatorio}$	7451,2097	7451,9532	7454,0652	7454,9755	7456,0767	7457,5088
Sin correlaciones	7449,8916	7451,7471	7453,6876	7454,1511	7455,6052	7457,0847

Cuadro 2. Correlaciones entre los valores simulados y estimados de los QTL de los diferentes modelos de análisis y casos de simulación

Distribución	Normal (0,1) Distancias genéticas			Normal (0,2) distancias genéticas		
	5	10	20	5	10	20
Modelos						
$\rho=1$	0,6997	0,7642	0,8274	0,8591	0,9060	0,9428
$\rho=10$	0,6150	0,7575	0,8276	0,7561	0,9002	0,9427
$\rho=20$	0,5421	0,6778	0,8191	0,6685	0,8182	0,9397
$\rho=30$	0,3618	0,6261	0,7749	0,5888	0,7593	0,9172
$\rho=40$	0,0810	0,5900	0,7288	0,1381	0,7283	0,8775
$\rho=50$	0,0327	0,5420	0,6954	0,0677	0,7044	0,8456
$\rho=\text{aleatorio}$	0,6926	0,7652	0,8176	0,8561	0,9064	0,9009
Sin correlaciones	0,6997	0,7642	0,8274	0,8591	0,9060	0,9428

Bibliografía

GIANOLA D., PÉREZ-ENCISO M., TORO M.A., 2002. On marker-assisted prediction of genetic value:Beyond the ridge. *Genetics* 163: 347-365.

HALEY C.S., KNOTT S.A., ELSÉN J.M., 1994. Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least square. *Genetics* 136: 1195-1207.

SPIEGELHALTER D.J., BEST N.G., CARLIN B.P., LINDE A. VAN DER., 2002. Bayesian measures of model complexity and fit (with discussion). *J. Royal Statist. Soc. B* 64.

PRELIMINARY RESULTS ON THE RELATIONSHIP BETWEEN CHOLESTEROL AND TRIGLYCERIDE SERUM LEVELS AND BODY WEIGHT AROUND WEANING IN PIGS

W.M. Rauw*, O. Portolés, J. Soler***, J. Reixach****, J.M. Prat Cufí*****, I. Díaz*****, L. Gómez Raya***

* Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Lleida

** Genetic and Molecular Epidemiology Unit, School of Medicine, University of Valencia, Valencia

*** Centro de Control Porcino, Monells (Girona)

**** Selección Batallé S.A., Riudarenes

***** Laboratori d'Anàlisis Clíniques, Hospital de Palamós, Palamós, Girona

***** Centre de Tecnologia de Carne, IRTA, Moneés, Girona

Introduction

Cholesterol is synthesized by the liver, adipose tissue and the intestine and released into the bloodstream (YOUNG *et al.*, 1993). The part of the cholesterol not produced by the body itself may come from the ingestion of animal products, such as meat, fish, eggs, butter, cheese and milk. Cholesterol is needed to give strength to cell membranes and to serve as a template for steroid hormones, such as estrogen and testosterone. However, in humans, having too high cholesterol levels is one of the major risk factors for heart diseases (KANDEL and WILSON, 1992).

Cholesterol is transported through the blood stream in the form of lipoproteins, of which the two most commonly known are low-density-lipoprotein (LDL-C) and high-density-lipoprotein (HDL-C). LDL-C is also referred to as "bad" cholesterol,

because it can contribute to the formation of plaques in the inner walls of the arteries that feed the heart and brain, a condition known as arteriosclerosis, which can cause heart attack or stroke. Conversely, HDL-C is referred to as "good" cholesterol, because a high level of it protects against heart attack by preventing the build up and formation of plaques (GORDON *et al.*, 1989).

Triglycerides are chains of high-energy fatty acids, necessary for providing energy for cells to function. High triglyceride levels have been associated with heart disease often in relation with low HDL-C levels. However, there is some evidence that triglyceride levels are an independent risk factor for heart diseases (HE *et al.*, 2004).

The present study investigated Total-C, HDL-C, LDL-C and triglyceride levels in pigs. The aim of the present study was to preliminarily investigate heritabilities and simple relationships between cholesterol

and triglyceride levels and body weight. Investigation of cholesterol levels in pigs may provide information on cholesterol levels in pig products for human consumption and the possibility to select for ‘healthier’ levels of cholesterol in pork. In addition, pigs could be used as a model for cholesterol issues in humans.

Material and Methods

The dataset used for the present preliminary investigation consisted of 103 pigs of the Duroc breed. Animals were born in August and September 2003 and where castrated sons of five sires distributed over three farms. At weaning (at 15 to 19 days of age), the pigs were moved to the test station “Centre de Control Porci” (CCP-IRTA), where they all received the same treatment. Two to three days after, body weight (BW) was taken. Blood cholesterol (Total-C, HDL-C and LDL-C) and triglyceride levels were measured once at 33 to 55 days of age. For estimates of heritabilities and phenotypic correlations, all measurements were adjusted for sire and farm according to the following model:

$$Y_{ijk} = \mu + Sire_i + Farm_j + e_{ijk}, \tag{1}$$

where μ = overall mean, $Sire_i$ = effect of sire i (1 to 5), $Farm_j$ = effect of farm j (1 to 3), e_{ijk} = error term of animal k , $e_{ijk} \sim NID(0, \sigma_e^2)$. Y_{ijk} denotes all traits tested with this model, as measured on animal k of sire i and farm j . All effects were considered to be fixed effects.

Results and Discussion

Heritabilities ($\pm$ sampling variance) and means ($\pm$ standard errors of the means) of Total-C, HDL-C and LDL-C and triglyceride levels in serum are presented in table 1. POND *et al.* (1986) estimated a heritability of Total-C in serum of 0.45; YOUNG *et al.* (1993) reported a realized heritability on Total-C in serum of 0.31. The high heritabilities found in this study suggest that selection for levels of these traits in serum could be successful. However, these heritabilities should be estimated with a larger number of animals in order to reduce the large sampling variance observed in this study. Further investigation should aim to determine how serum levels of cholesterol

Table 1. Heritabilities (h^2 ; $\pm$ approximate sampling variance), means ($\pm$ standard errors of the means) and the range of normal values in humans of total cholesterol (Total-C), high-density-lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density-lipoprotein cholesterol (LDL-C) and triglyceride levels in serum

	h^2 ($\pm$ sampling variance)	Mean ($\pm$ s.e.)	Range in humans ^a
Total-C (mg/dL)	0.43 ($\pm$ 0.15)	78.5 ($\pm$ 1.36)	100-240
HDL-C (mg/dL)	0.30 ($\pm$ 0.11)	32.3 ($\pm$ 0.57)	35-100
LDL-C (mg/dL)	0.57 ($\pm$ 0.24)	35.2 ($\pm$ 0.87)	60-120
Triglycerides (mg/dL)	0.97 ($\pm$ 0.38)	54.4 ($\pm$ 2.09)	10-190

^aMedline Plus, 2004

and triglycerides relate to levels in animal products most widely used for human consumption, such as muscle. Table 1 furthermore gives the range of normal levels of the

traits in humans. The values of cholesterol levels obtained in pigs are outside this range, especially Total-C and LDL-C. This means that other ranges are applicable to

Table 2. Phenotypic correlations between total cholesterol (Total-C), high-density-lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density-lipoprotein cholesterol (LDL-C), triglycerides, and body weight (BW)

	Total-C	HDL-C	LDL-C	Triglycerides
HDL-C	0.79 ***			
LDL-C	0.83 ***	0.45 ***		
Triglycerides	0.38 ***	0.20 *	-0.03	
BW	0.22 *	0.10	0.30**	-0.05

***: P<0.001; **: P<0.01; *: P<0.05.

cholesterol levels in pigs. Average body weight was 4.70 (± 0.09) kg.

The results show that animals with a high Total-C level have high levels of HDL-C, LDL-C and triglycerides. Animals with high levels of HDL-C also have high levels of LDL-C and triglycerides. Also in humans a significant relationship is found between the level of triglycerides and HDL-C, but this is found to be negative (e.g., Fredenrich and Bayer, 2003; Olswold and De Andrade, 2003). In agreement with our results, in humans, PING *et al.* (2000) observed a significant correlation between total and LDL-C levels (r = 0.68).

The results show furthermore that heavier animals have higher levels of total and LD-C. In a selection experiment for serum cholesterol concentration in pigs, animals from the high cholesterol line were heavier after three generations of selection than those of the low cholesterol line (YOUNG *et al.*, 1993). In mice, DUNNINGTON *et al.* (1981) also observed an increased weight of

females with selection for high cholesterol concentrations. Furthermore, in the same study selection for high body weight at 56 days was accompanied by an increase in serum cholesterol. The results are in agreement with the observation that people who are overweight have higher blood cholesterol levels than people of desirable weight. WILSGAARD and ARNESEN (2004) concluded that, in humans, an increase in body mass index was associated with adverse changes in HDL-C and Total-C, and in triglycerides. Also in the study of DEVROEY *et al.* (2004), in humans, obesity was correlated with low HDL-C and high triglycerides. In the present study in pigs, no relationship was found between BW and HDL-C or triglycerides levels. Further analysis will investigate cholesterol levels at later ages and higher body weights, which may be better for comparison with the situation in humans.

In conclusion, high heritabilities for all traits indicate the possibility to select for cholesterol and triglyceride serum levels in

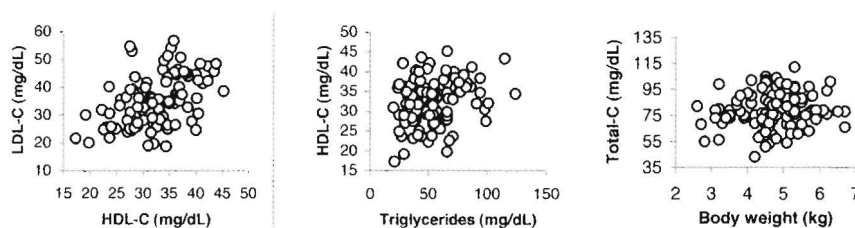


Figure 1. Phenotypic relationship between HDL-C and LDL-C, triglycerides and HDL-C, and body weight and Total-C.

pigs. The values in pigs were not in the range of human cholesterol levels. As in humans, there was a positive relationship between cholesterol levels and body weight. Selection for increased body weight in piglets may yield animals with high cholesterol levels, as is also indicated by the study of DUNNINGTON *et al.* in mice (1981). It is still needed to determine the relationship between serum and muscle cholesterol levels. An interesting observation in this study is the positive correlation between HDL-C and triglycerides, whereas this relationship is found to be negative in humans. Further analysis will include a larger amount of data, including measurements on cholesterol and triglycerides, body weight, growth, food intake and food efficiency at slaughter.

Acknowledgements

We are grateful to the Spanish Ministry of Science and Technology for financing this work through the project AGL2002-04271-C03-02. The company "Selection

Batallé" kindly provided animals and support for carrying out this experiment.

References

- DEVROEY D., DE SWAEF N., COIGNIEZ P., VANDEVOORDE J., KARTOONIAN J., BETZ W., 2004. Correlations between lipid levels and age, gender, glycemias, obesity, diabetes, and smoking. *Endocrine research* 30: 83.
- DUNNINGTON E.A., WHITE J.M., VINSON W.E., 1981. Selection for serum cholesterol, voluntary physical activity, 56-day body weight and feed intake in randombred mice: II. Correlated responses. *Can. J. Genet. Cytol.* 23: 545.
- FREDENRICH A., BAYER P., 2003. Reverse cholesterol transport, high density lipoproteins and HDL cholesterol: recent data. *Annu. Epidemiol.* 14: 265.
- GORDON D.J., PROBSTFIELD J.L., GARRISON R.J., NEATON J.D., CASTELLI W.P., KNOKE J.D., JACOBS D.R. JR, BANGDIWALA S., TYROLER H.A., 1989. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation* 79: 8.
- HE Y., LAM T.H., LI L.S., LI L.S., HE S.F., LIANG B.Q., 2004. Triglyceride and coronary heart disease mortality in a 24-year follow-up study in Xi'an, China. *Ann. Epidemiol.* 14: 1.

- KANNEL W.B., WILSON P.W., 1992. Efficacy of lipid profiles in prediction of coronary disease. *Am. Heart J.* 124: 768. Medline Plus, 2004. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003491.htm>.
- MEDLINE PLUS, 2004. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003491.htm>
- MERSMANN H.J., POND W.G., YEN J.T., 1982. Plasma glucose, insulin and lipids during growth of genetically lean and obese swine. *Growth* 46: 189.
- OLSWOLD C., DE ANDRADE M., 2003. Localization of genes involved in the metabolic syndrome using multivariate linkage analysis. *BMC Genetics*: 4(Suppl 1):S57.
- PING S., DWYER K.M., BAIREY MERZ C.N., SUN W., JOHNSON C.A., SHIRCORE A.M., DWYER J.H., 2000. Blood pressure, LDL cholesterol, and intima-media thickness. *Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology* 20: 2005.
- POND W.G., MERSMANN H.J., YOUNG L.D., 1989. Heritability of plasma cholesterol and triglyceride concentrations in swine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 182: 221.
- STEELE N.C., FROBISH L.T., DAVEY R.J., KEENEY M., 1972. Effect of selection for backfat thickness in swine on lipogenic enzyme levels. *J. Anim. Sci.* 35: 225.
- YOUNG L.D., POND W.G., MERSMANN H.J., 1993. Direct and correlated responses to divergent selection for serum cholesterol concentration on day 56 in swine. *J. Anim. Sci.* 71: 1742.

IMPORTANCIA DE LA NUTRICIÓN EN LA REPRODUCCIÓN DE PECES

M. Izquierdo, H. Fernández-Palacios

Grupo de Investigación en Acuicultura. IUSA & ICCM. P.O.
Box 56, 35200, Telde, Las Palmas de Gran Canaria
mizquierdo@dbio.ulpgc.es

La acuicultura: un recurso alimentario en continuo crecimiento

Según los datos de la Organización Mundial para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la población mundial actual está a punto de superar los seis mil quinientos millones de personas, presentando un crecimiento exponencial, a pesar de que los recursos naturales de La Tierra son limitados. Si bien es cierto que en la actualidad la agricultura es capaz de producir suficiente alimento para sostener toda la población mundial, el reparto desigual en los recursos financieros necesarios para acceder a ese alimento impide que se alcance ese objetivo. Además, aunque una distribución más equitativa de los recursos mejoraría en gran medida la inseguridad alimentaria, no podría llegar a eliminarla completamente.

Al mismo tiempo, la demanda mundial de pescado se ha incrementado notablemente, y no sólo porque la población mundial está en continuo crecimiento, sino porque el consumo per cápita de pescado también se incrementa, concretamente a un ritmo de medio kilo más al año por persona. Así en la actualidad, el consumo medio de pescado está entre 14-16 Kg. de pescado anual per cápita (de 28 a 44 kg en España, según las estadísticas). Sin embargo, a pesar de este incremento en la demanda de pescado, las pesquerías mundiales se han mantenido

estables durante los últimos 15 años. Más aún, los científicos pesqueros aseguran que serán completamente insostenibles después del año 2040. En efecto, el mar no es una fuente inagotable de alimento y la pesca ha tocado el fondo del saco, amenazando con romperlo en menos de 35 años.

Frente a esta situación abocada al desplome a medio-largo plazo de las pesquerías, se presenta la acuicultura, producción controlada de organismos acuáticos como la única alternativa para complementar la producción pesquera y permitir el abastecimiento de pescado a la población mundial. El término Acuicultura engloba todas las actividades que tienen por objeto la producción, engorde y comercialización de organismos acuáticos, animales o vegetales, de aguas dulces, salobres o marinas. La distinción entre cultivo y cría no establece, como ocurre en el medio terrestre, una separación entre los reinos vegetal y animal, sino un nivel diferente de problemas y exigencias engendradas por la especificidad de los sujetos de cría, si bien es cierto que el engorde de peces a elevada densidad reviste todas las características de una cría, no lo es menos que la producción de mejillones o de ostras se parece más a un cultivo, por el ritmo y la naturaleza de las labores que conlleva.

En la actualidad, la producción mundial de acuicultura ya ha superado los 50 millones de toneladas métricas, siendo el sector de pro-

ducción de alimento que presenta el mayor crecimiento anual, superior al 10% durante los últimos 15 años frente al 2,8 % de la producción de carne. Así, se han superado ampliamente todas las expectativas de producción y la acuicultura ha demostrado su potencial real para cubrir los retos de seguridad alimentaria y generación de empleo y beneficios económicos y convertirse en una verdadera "Revolución azul". No podemos olvidar que más del 70 % de la superficie del llamado Planeta azul está cubierta de agua con un gran potencial de producción de alimento para aliviar la inseguridad alimentaria que azota a la humanidad.

Importancia de la correcta alimentación de reproductores

Uno de los principales cuellos de botella para el desarrollo de la producción comercial de especies acuáticas es la obtención de un número suficiente de alevines de buena calidad. Y es que cuando los peces son mantenidos en cautividad aparecen numerosos problemas relacionados con la reproducción tales como la ausencia de ovulación y puesta, la espermatogénesis debilitada, las puestas estacionales en épocas inadecuadas para la producción, las puestas asincrónicas, la reducción del crecimiento somático durante la reproducción, las puestas excesivas o indeseables, etc. En la mayoría de las especies cultivables estos problemas son controlados mediante inducciones hormonales o regulación de ciertos parámetros ambientales como fotoperiodo, temperatura o salinidad.

La correcta alimentación y nutrición de los reproductores permite mejorar considerablemente no sólo la calidad del esperma y el huevo, sino también la producción de semilla. Pero, a pesar del considerable avance en

nutrición de peces de cultivos durante las dos últimas décadas, en muchas ocasiones los conocimientos actuales sobre los requerimientos nutricionales de los reproductores son insuficientes para asegurar la calidad de las puestas, debido al elevado coste y la complejidad de manejo de este tipo de estudios. Sin embargo, como en nutrición del ser humano y del ganado (LEBOULANGER, 1977) está claro que los requerimientos nutritivos de los reproductores serán diferentes de los animales juveniles que están en rápido crecimiento. Es más, como en otros animales, también es claro que muchas de las deficiencias y de los problemas encontrados durante las fases tempranas de la cría larvaria están relacionados directamente con el régimen de alimentación, incluyendo nivel y duración de nutrientes, de los reproductores. El objetivo de esta revisión es tratar efectos principales de la nutrición de reproductores sobre la reproducción de los peces en cultivo.

Fecundidad

Varios métodos se han desarrollado para determinar la calidad del huevo de los peces (KJORSVIK *et al.*, 1990; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995). Uno de los parámetros, la fecundidad, se ha utilizado para determinar la calidad del huevo, por ser sensible a deficiencias nutricionales en dietas de los reproductores. La fecundidad es el número total de huevos producidos por cada pez expresado en términos de huevos/puesta o de huevos/peso corporal. La fecundidad reducida, que ha sido documentada en varias especies de peces marinos, podría ser causada entre otras por la influencia de un desequilibrio nutricional sobre el sistema endocrino hipotálamo-hipófiso-gonadal de o por la restric-

ción en la disponibilidad de un componente bioquímico para la formación del huevo.

Uno de los principales factores nutricionales que ha sido descrito que afecta a los rendimientos reproductivos en peces es el contenido en ácidos grasos esenciales en la dieta. En dorada *Sparus aurata* fue encontrado que la fecundidad aumenta significativamente con el incremento del nivel de n-3HUFA en la dieta (ácidos grasos poliinsaturados con 20 ó más átomos de carbono, esencialmente en peces marinos) hasta el 1,6% (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995). En espáridos, la composición en ácidos grasos esenciales de la gónada de la hembra es afectada de manera importante por el contenido de ácidos grasos en la dieta, la cual influencia significativamente la calidad del huevo a corto plazo (HAREL *et al.*, 1992). Así, en dorada, la composición en ácidos grasos de los huevos está directamente afectada por el contenido en n-3 HUFA de la dieta de los reproductores (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995). Una correlación positiva fue observada entre los niveles de n-3 HUFA en la dieta y los huevos, con la concentración de EPA que era afectada más fácilmente por n-3 HUFA en la dieta que el DHA. La retención selectiva de DHA también ha sido encontrada durante la embriogénesis y durante el ayuno (IZQUIERDO, 1996), denotando la importancia de éste ácido graso en el desarrollo del embrión y la larva. Los ácidos grasos poliinsaturados también pueden regular la producción de eicosanoides, particularmente prostaglandinas, las cuales están implicadas en varios procesos reproductivos, incluyendo la producción de hormonas esteroideas y el desarrollo gonadal como la ovulación (MOORE, 1995). Los ovarios de los peces tienen una alta capacidad para generar eicosanoides, entre ellas la prostaglandina E (PGE) derivada de la acción cicloxigenasa y leucotrienos LTB y 4. LTB procede de la

actividad lipoxigenasa (KNIGHT *et al.*, 1995). Los inhibidores de esta enzima redujeron la maduración inducida por gonadotropina de oocitos en lubina (ASTURIANO, 1999; IZQUIERDO *et al.*, 2001) sugiriendo que los productos derivados de la acción de la lipoxigenasa podrían también estar implicados en la maduración del oocito.

Además de que las dietas deficientes en EFA causan efectos perjudiciales en los peces, también han sido descritos los efectos negativos de sus excesos sobre los rendimientos reproductivos de los peces. Por ejemplo, los altos niveles de n-3 HUFA en la dieta redujeron la cantidad total de huevos producidos en reproductores de dorada a pesar del incremento de la concentración de n-3 HUFA en el huevo (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995). Puesto que la fecundidad reducida estuvo asociada con el alto contenido de n-3 HUFA en el huevo, sólo contenidos elevados de EFA no deberían ser utilizados como criterio para determinar la calidad del huevo de reproductores de dorada. Altos niveles de n-3 HUFA en la dieta podrían afectar al eje endocrino hipotálamo-hipófiso-gonadal habiendo sido encontrado que ambos EPA y DHA reducen *in vitro* la acción esteroideogénica de la gonadotropina en el ovario de los peces teleósteos (MERCURE y VAN DER KRAAK, 1995).

Otros nutrientes que han sido mostrados que afectan a la fecundidad son la vitamina E (IZQUIERDO y FERNÁNDEZ-PALACIOS, 1997; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1998) y el ácido ascórbico (BLOM y DABROWSKI, 1995). Un incremento en la dieta de los niveles de a-tocoferol de hasta 125 mg/kg resultó en una mejora en la fecundidad de dorada, expresada como el número total de huevos producido por hembra y viabilidad del huevo. Sin embargo, la fecundidad reducida observada en reproductores alimentados con una dieta deficiente en a-tocoferol no estuvo asociada

con el contenido reducido en vitamina E de los huevos, y sólo muy altos niveles de vitamina E 2020 mg/kg fueron encontrados que incrementan el contenido de tocoferol del huevo. Los requerimientos antioxidantes de la dieta incrementan durante la reproducción (IZQUIERDO y FERNÁNDEZ-PALACIOS, 1997; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1998). Esto puede estar relacionado con la formación de radicales de oxígeno durante la biosíntesis de hormonas esteroides como ha sido observado en vertebrados superiores. Por ejemplo, los niveles de compuestos antioxidantes estuvieron correlacionados con los niveles de progesterona en cuerpo lúteo en bovino sugiriendo la activación de mecanismos antioxidativos para poder con la formación de oxiradicales dependiente de la esteroidogénesis (RAPOPORT *et al.*, 1998).

Ciertos nutrientes de la dieta también ejercen un efecto marcado sobre la fertilización. Los niveles de EPA y AA en la dieta muestran una correlación con las tasas de fertilización en reproductores de dorada (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995, 1997). Así, la composición de ácidos grasos del esperma depende del contenido en ácidos grasos esenciales en la dieta de los reproductores de especies como la trucha arco iris (WATANABE *et al.*, 1984d; LABBE *et al.*, 1993) y la lubina (ASTURIANO, 1999), lo que es posible que afecte a la movilidad del esperma y consecuentemente a la fertilidad. Particularmente en salmónidos, donde la criopreservación de esperma es utilizada habitualmente, la composición de ácidos grasos del esperma podría ser un factor que determina la integridad de membrana después la congelación-descongelación. Otra hipótesis puede explicar el efecto beneficioso del EPA y AA sobre las tasas de fertilización, ambos ácidos grasos están envueltos en funciones celulares y son precursores de eicosanoides. El EPA es conocido por ser

un precursor de prostaglandinas de series III, mientras que el AA es un precursor de prostaglandinas de series II (STACEY y GOTEES, 1982). *In vitro* AA, pero no EPA o DHA, estimulan testosterona testicular en testículo de goldfish a través de su conversión a prostaglandina PGE2 (WADE *et al.*, 1994). Por el contrario, EPA o DHA bloquearon la acción esteroidogénica de ambos ácido araquidónico y PGE. Ambos AA y EPA modulan la esteroidogénesis en testículos de goldfish (WADE *et al.*, 1994). De hecho, la formación del esperma puede ser retrasada y consecuentemente las tasas de fertilización reducidas mediante depresión de la esteroidogénesis causada por una deficiencia o desequilibrio de EFA en los reproductores. Más aún, las prostaglandinas son reconocidas también como feromonas importantes en algunos peces teleósteos. Algunas PGs producidas por hembras de goldfish, tales como PGFs, ha sido mostrado que estimulan el comportamiento sexual del macho y sincroniza las puestas de machos y hembras, afectando así directamente la éxito de la fertilización (SORENSEN *et al.*, 1988).

Otros nutrientes conocidos que son importantes para la fertilización son la vitamina E (IZQUIERDO y FERNÁNDEZ-PALACIOS, 1997; FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1998), los carotenoides (CRAIK, 1985) y la vitamina C. El ácido ascórbico ha sido mostrado que juega un papel importante en la reproducción de salmónidos (BLOM y DABROWSKI, 1995), en la esteroidogénesis y la vitelogénesis. La función antioxidante de las vitamina C y E pueden jugar un papel importante para las células espermáticas durante la espermatogénesis y hasta la fertilización mediante la reducción del riesgo de la peroxidación de lípido, lo cual es perjudicial para la movilidad del esperma.

Desarrollo embrionario

Varios nutrientes son esenciales para el desarrollo normal del embrión y sus niveles en las dietas de reproductores mejoran la morfología del huevo y la tasa de eclosión. El porcentaje de huevos morfológicamente normales, como un parámetro para determinar la viabilidad de los huevos, ha sido encontrado que incrementa con el aumento en los niveles de n-3 HUFA en las dietas de reproductores y una incorporación de estos ácidos grasos dentro de los huevos (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1995), indicando así la importancia de los EFAs para el normal desarrollo de huevos y embriones de dorada. Doradas alimentadas con dietas deficientes en EFA han mostrado un incremento del número de gotas de lípidos en el huevo (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1997), como también ha sido demostrado en dorada japonesa (WATANABE *et al.*, 1984a). Estos ácidos grasos juegan un papel estructural importante como componentes de los fosfolípidos en membranas de peces y están asociados con la fluidez de membrana y el correcto funcionamiento fisiológico de enzimas asociadas a membrana y la función celular en peces marinos.

Los radicales libres deterioran las membranas del huevo y la integridad de membrana. Para la vitamina E, la vitamina C y los carotenoides, como la astaxantina, ha sido puesto de manifiesto que tiene un papel protector contra la acción de radicales libres. Aunque los efectos negativos de la deficiencia en vitamina E sobre los rendimientos reproductivos de los vertebrados superiores han sido demostrados desde principios de 1920, la importancia de la vitamina E como nutriente en la reproducción de los peces sólo ha sido demostrada en 1990, donde su deficiencia produce gónadas inmaduras en Carpa y Ayu y reduce las tasas de eclosión y super-

vivencia en Ayu (WATANABE, 1990). Un incremento en el nivel de a-tocoferol en la dieta de 22 a 125 mg/kg también reduce significativamente el porcentaje de huevos anormales en dorada (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.*, 1997) y produce una mejora en el porcentaje de huevos normales (IZQUIERDO *et al.*, 2001). Por otro lado, es bien conocida la función de la vitamina E como un antioxidante inter e intracelular para mantener la homeostasis de metabolitos hábiles en la célula y plasma. En ratas diabéticas, la suplementación de vitamina E en dietas maternas también reduce las malformaciones congénitas, incrementan las concentraciones de tocoferol en los tejidos maternos, de embriones y fetos.

También ha sido demostrado que la supervivencia de embriones es afectada por el contenido de vitamina C de la dieta de los reproductores. Esta vitamina es necesaria para la síntesis del colágeno durante el desarrollo embrionario. En reproductores de trucha arco iris *O. mykiss*, los requerimientos de vitamina C fue hasta ocho veces más alta que la de juveniles (BLOM y DABROWSKI, 1995). Otras investigaciones con dorada japonesa han demostrado que los fosfolípidos en la dieta mejoran la calidad del huevo (WATANABE *et al.*, 1991a, b). Aunque los efectos beneficiosos de los fosfolípidos han sido atribuidos a su capacidad de captación de radicales libres (WATANABE y KIRON, 1995), en algunas especies de peces son importantes durante el desarrollo larvario siendo preferentemente catabolizado después de la eclosión y antes de la primera alimentación (RAINUZZO *et al.*, 1997).

Calidad larvaria

Pocos han sido los estudios realizados para demostrar la mejora de la calidad de

la semilla a través de la implementación de nutrición de los reproductores. Incrementando los niveles de lípidos del 12% al 18% en reproductores de *Siganus guttatus* produjeron larvas grandes eclosionadas y un incremento en la supervivencia a los 14 días después de la eclosión (DURAY *et al.*, 1994). El incremento de los niveles de n-3 HUFA particularmente DHA in dietas de reproductores pusieron de manifiesto que estimulan significativamente el peso de las larvas de los peces y su resistencia al choque osmótico (ABY-AYAD *et al.*, 1997).

Conclusión

En resumen, la información de los requerimientos nutritivos de reproductores de peces está limitado a unas pocas especies y nutrientes. Para ciertos nutrientes tales como los ácidos grasos esenciales y nutrientes antioxidantes ha sido demostrado que juegan particularmente un papel importante en la nutrición de los reproductores. Sus requerimientos durante la reproducción son más altos que aquellos de los juveniles,

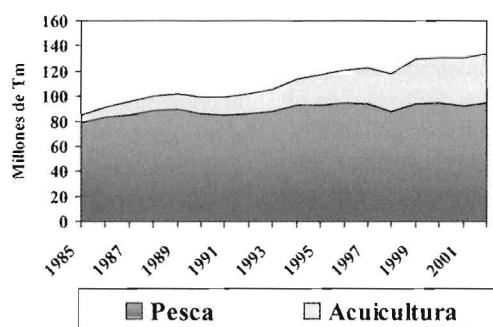


Figura 1. Evolución de la producción en acuicultura con respecto a la pesca.

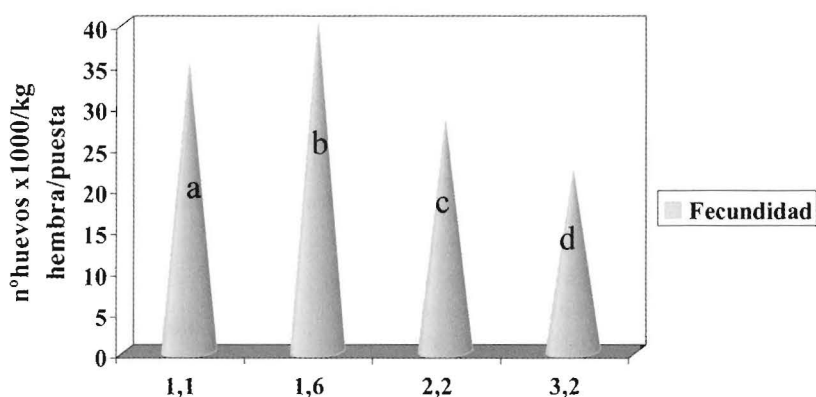


Figura 2. Efecto del exceso de n-3 HUFA dietético en la fecundidad de dorada.

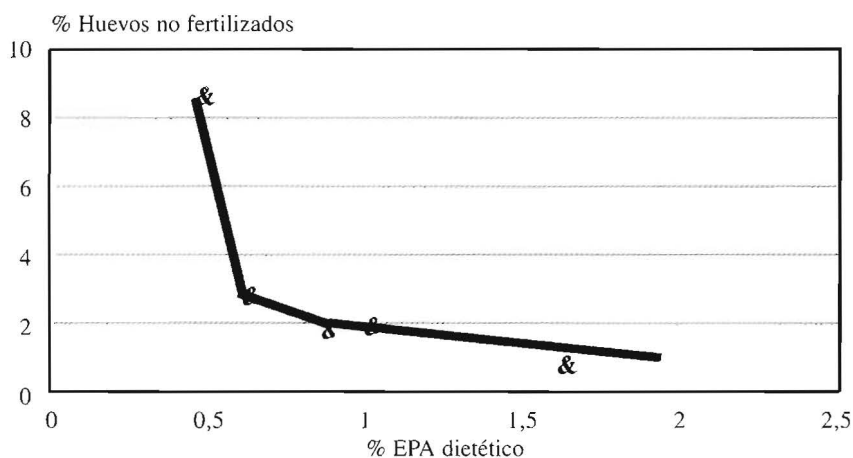


Figura 3. Efecto del EPA dietético en la fertilización.

pero cantidades excesivas de nutrientes o un desequilibrio puede ser perjudicial para la reproducción. También es conocida la importancia que juegan en la reproducción de los peces algunos minerales, tales como el fósforo, y otros aspectos nutricionales, tales como la calidad de las proteínas. La importancia de otros nutrientes tales como la vitamina A, la vitamina B6 y el ácido fólico aún no ha sido establecida dentro de la alimentación de reproductores y depara un futuro en la investigación. Futuros estudios *in vitro* pueden suministrar claves para funcionar y explicar ciertos mecanismos bioquímicos de ciertos micronutrientes en reproducción de peces, sin embargo, estos estudios serían un complemento a los estudios *in vivo* más que para reemplazarlos.

Bibliografía

- ABY-AYAD S.-M.E.-A., MELARD C., KISTEMONT P., 1997. Effects of fatty acids in Eurasian perch broodstock diet on egg fatty acid composition and larvae stress resistance. *Aquacult. Int.* 5, 161-168.
- ASTURIANO J.F., 1999. El proceso reproductivo de la lubina europea *Dicentrarchus labrax* L. . Efectos de los ácidos grasos de la dieta: estudios *in vivo* e *in vitro*. PhD Thesis, Valencia University, Spain, 251 pp.
- BLOM J.H., DABROWSKI K., 1995. Reproductive success of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in response to graded dietary ascorbyl monophosphate levels. *Biol. Reprod.* 52, 1073-1080.
- CRAIK J.C.A., 1985. Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes. *Aquaculture* 47, 61-88.
- DURAY M., KOHNO H., PASCUAL F., 1994. The effect of lipid enriched broodstock diets on spawning and on egg and larval quality of hatchery-bred rabbitfish *Siganus guttatus*. *Philipp. Sci.* 31, 42-57.
- FERNÁNDEZ-PALACIOS H., IZQUIERDO M.S., ROBAINA L., VALENCIA A., SALHI M., VERGARA J., 1995. Effect of *n*-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquaculture* 132, 325-337.
- FERNÁNDEZ-PALACIOS H., IZQUIERDO M., ROBAINA L., VALENCIA A., SALHI M., MONTERO D., 1997. The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for Gilthead seabream *Sparus aurata*. *Aquaculture* 148, 233-246.
- FERNÁNDEZ-PALACIOS H., IZQUIERDO M.S., GONZALEZ M., ROBAINA L., VALENCIA A., 1998. Combined effect of dietary α -tocopherol and *n*-3 HUFA on

- egg quality of gilthead seabream broodstock *Sparus aurata*. Aquaculture 161, 475-476.
- HAREL M., TANDLER A., KISSIL G.W.M., APPLEBAUM S., 1994. The kinetics of nutrient incorporation into body tissues of gilthead sea bream *S. aurata* females and subsequent effects on egg composition and egg quality. Br. J. Nutr. 72, 45-58.
- IZQUIERDO M., 1996. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. Aquacult. Nutr. 2, 183-191.
- IZQUIERDO M., FERNÁNDEZ-PALACIOS H., 1997. Nutritional requirements of marine fish larvae and broodstock. Cah. Options Mediterr. 22, 243-264.
- IZQUIERDO M.S., FERNÁNDEZ-PALACIOS H., TACON A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture 197: 25-42.
- KJORSVIK E., MANGOR-JESEN A., HOLMEFJORD I., 1990. Egg quality in fishes. Advances in Marine Biology, vol. 26, Academic Press, London, pp. 71-113.
- KNIGHT J., HOLLAND J.W., BOWDEN L.A., HALLIDAY K., ROWLEY A.F., 1995. Eicosanoid generating capacities of different tissues from the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Lipids 30 5, 451-458.
- LABBE C., LOIR M., KAUSHIK S., MAISSE G., 1993. The influence of both rearing and dietary lipid origin on fatty acid composition of spermatozoan polar lipids in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Effect on sperm cryopreservation tolerance. Fish Nutrition in Practice, Biarritz France, June 24-27, 1991. Ed. INRA, Paris 1993 Les Colloques, no. 61, pp. 49-59.
- LEBOULANGER J., 1977. Les vitamines. Biochemie-Mode d'action-Interet thérapeutique. Ed. Roche, Neuilly-sur-Seine, France, 194 pp.
- MERCURE F., VAN DER KRAAK G., 1995. Inhibition of gonadotropin-stimulated ovarian steroid production by polyunsaturated fatty acids in teleost fish. Lipids 30, 547-554.
- MOORE P.K., 1995. Prostanoids: Pharmacological, Physiological and Clinical Relevance. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- RAINUZZO J.R., REITAN K.I., OLSEN Y., 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. Aquaculture 155, 105-118.
- RAPOPORT R., SKLAN D., WOLFENSON D., SHAHAM-ALBALANCY A., HANUKOGLU I., 1998. Antioxidant capacity is correlated with steroidogenic status of the corpus luteum during bovine estrous cycle. Biochem. Biophys. Acta 1380, 133-140.
- SORENSEN P.W., HARA T.J., STACEY N.E., GOETZ F.W., 1988. Prostaglandins function as potent stimulants that comprise the post-ovulatory female sex pheromone in goldfish. Biol. Reprod. 39, 1039-1050.
- STACEY N.E., GOETZ F.W., 1982. Role of prostaglandins in fish reproduction. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39, 92-98.
- WADE M.G., VAN DER KRAAK G., GERRITS M.F., BALLANTYNE J.S., 1994. Release and steroidogenic actions of polyunsaturated fatty acids in the goldfish testis. Biol. Reprod. 51, 131-139.
- WATANABE T., 1990. Effect of broodstock diets on reproduction of fish. Actes Colloq. - IFREMER 9, 542-543.
- WATANABE T., KIRON V., 1995. Broodstock management and nutritional approaches for quality offsprings in the Red Sea Bream. In: Bromage, N.R., Roberts, R.J. Eds., Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 424 pp.
- WATANABE T., ARAKAWA T., KITAJIMA C., FUJITA S., 1984a. Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. Nippon Suisan Gakkaishi 50 3, 495-501.
- WATANABE T., TAKEUCHI T., SAITO M., NISHIMURA K., 1984d. Effect of low protein-high calorie or essential fatty acid deficiency diet on reproduction of rainbow trout. Nippon Suisan Gakkaishi 50 7, 1207-1215.
- WATANABE T., LEE M., MIZUTANI J., YAMADA T., SATOH S., TAKEUCHI T., YOSHIDA N., KITADA T., ARAKAWA T., 1991a. Effective components in cuttlefish meal and raw krill for improvement of quality of red sea bream *Pagrus major* eggs. Nippon Suisan Gakkaishi 57 4, 681-694.
- WATANABE T., FUJIMURA T., LEE M.J., FUKUSHO K., SATOH S., TAKEUCHI T., 1991b. Effect of polar and nonpolar lipids from krill on quality of eggs of red seabream *Pagrus major*. Nippon Suisan Gakkaishi 57 4, 695-698.

**PREMIOS DE PRENSA AGRARIA 2004
DE LA
ASOCIACIÓN INTERPROFESIONAL
PARA EL DESARROLLO AGRARIO**

La Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA) acordó en Asamblea General celebrada en mayo de 1983, instaurar un premio anual de Prensa Agraria, con el objetivo de hacer destacar aquel artículo de los publicados en ITEA que reúna las mejores características técnicas, científicas y de valor divulgativo, y que refleje a juicio del jurado, el espíritu fundacional de AIDA de hacer de transmisor de conocimientos hacia el profesional, técnico o empresario agrario.

El día 9 de abril de 1987, la Junta Directiva de AIDA aceptando la propuesta del Jurado del Premio ITEA 1986 instituyó dos premios; uno para los artículos publicados en la sección de Producción Animal y otro para aquellos que aparezcan en la sección de Producción Vegetal.

Los premios se registrarán de acuerdo a las siguientes

BASES

1. Podrán concursar todos los artículos que versen sobre cualquier tema técnico-económico-agrario.
2. Los artículos que podrán acceder a los premios serán todos aquellos que se publiquen en ITEA en el año 2004. Consecuentemente, los originales deberán ser enviados de acuerdo con las normas de ITEA y aprobados por su Comité de Redacción.
3. El jurado estará constituido por las siguientes personas:
 - a) Presidente de AIDA, que presidirá el jurado.
 - b) Director de la revista ITEA, que actuará de Secretario.
 - c) Jefe del Servicio de Investigación Agroalimentaria de Zaragoza (Diputación General de Aragón).
 - d) Director del Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza.
 - e) Director de la Estación Experimental de Aula Dei.
4. Los premios serán anuales y con una dotación de 300 € cada uno.
5. Las deliberaciones del jurado serán secretas, y su fallo inapelable.
6. El fallo del jurado se dará a conocer en la revista ITEA, y la entrega del premio se realizará con motivo de la celebración de las Jornadas de Estudio de AIDA.



CENTRO INTERNACIONAL DE ALTOS ESTUDIOS AGRONÓMICOS MEDITERRÁNEOS
INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA

CIHEAM/IAMZ - Cursos 2004-05-06

CIHEAM

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
PRODUCCIÓN VEGETAL	*MEJORA GENÉTICA VEGETAL	4 Oct. 04/ 10 Jun. 05	Zaragoza	IAMZ
	GESTIÓN DE RIESGOS EN LA AGRICULTURA MEDITERRÁNEA: SEGUROS AGRARIOS	22-26 Nov. 04	Zaragoza	IAMZ/MAPA-ENESA/ OCDE/AECI
	USO DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN MEJORA VEGETAL	17-28 Ene. 05	Cabrils	IAMZ/IRTA
	*OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA	26 Sep. 05/ 31 Mayo 06	Córdoba CSIC/CO/IAMZ	UCO/CAP-JA/
	DISEÑO Y ANÁLISIS DE SERIES DE ENSAYOS: MÉTODOS CLÁSICOS Y BASADOS EN QTLs	12-23 Sep. 05	Zaragoza	IAMZ/Generation Challenge Program
	AGRICULTURA DE REGADÍO SOSTENIBLE EN LA REGIÓN MEDITERRÁNEA: GESTIÓN DE INSUMOS Y CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN	14-25 Nov. 05	Zaragoza	IAMZ
	HORTICULTURA INTENSIVA Y MEDIO AMBIENTE	16-20 Ene. 06	Zaragoza	IAMZ
	CARACTERIZACIÓN DE LA VARIABILIDAD ESPACIAL Y TEMPORAL PARA LA PLANIFICACIÓN AGRARIA Y EL MANEJO DE CULTIVOS EN CONDICIONES MEDITERRÁNEAS	7-17 Mar. 06	Zaragoza	IAMZ/ICARDA
	ALIMENTOS FUNCIONALES: BASES CIENTÍFICAS Y OPORTUNIDADES PARA EL SECTOR AGROALIMENTARIO	3-7 Abr. 06	Zaragoza	IAMZ
PRODUCCIÓN ANIMAL	PLANIFICACIÓN Y DESARROLLO DE CAMPAÑAS DE SANEAMIENTO GANADERO	13-17 Sep. 04	Zaragoza	IAMZ/FAO/OIE
	TRAZABILIDAD DE PRODUCTOS CÁRNICOS: SISTEMAS Y TÉCNICAS	13-17 Dic. 04	Zaragoza	IAMZ
	VALORIZACIÓN DE PRODUCTOS LÁCTEOS DE OVINOS Y CAPRINOS EN EL ÁREA MEDITERRÁNEA. TECNOLOGÍAS ACTUALES Y PERSPECTIVAS DE MERCADO	7-18 Feb. 05	Pamplona	IAMZ/Univ. Pública de Navarra
	TÉCNICAS MOLECULARES EN MEJORA GENÉTICA ANIMAL	4-8 Abr. 05	León	IAMZ/Univ. León
	PRODUCCIÓN ANIMAL Y GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	2-7 Mayo 05	Fonte Boa	IAMZ/EZN
	*PRODUCCIÓN ANIMAL	3 Oct. 05/9 Jun. 06	Zaragoza IAMZ	

(*) Cursos de Especialización Postuniversitaria del correspondiente Programa Master of Science (*marcados con asterisco en el listado). Se desarrollan cada dos años:

- MEJORA GENÉTICA VEGETAL: 04-05; 06-07; 08-09
- OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA: 03-04; 05-06; 07-08
- PRODUCCIÓN ANIMAL: 03-04; 05-06; 07-08
- PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE: 04-05; 06-07; 08-09
- MARKETING AGROALIMENTARIO: 03-04; 05-06; 07-08
- ECONOMÍA Y GESTIÓN DE LA ACTIVIDAD PESQUERA: 04-05; 06-07; 08-09
- ACUICULTURA: 04-05; 06-07; 08-09

Se destinan primordialmente a titulados superiores en vías de especialización postuniversitaria. No obstante se estructuran en ciclos independientes para facilitar la asistencia de profesionales interesados en aspectos parciales del programa. Los participantes que cumplan los requisitos académicos pueden optar a la realización del 2º año para la obtención del Título Master of Science. El plazo de inscripción para los cursos de Mejora Genética Vegetal, Ordenación Rural en Función del Medio Ambiente y Acuicultura finaliza el 15 de Mayo 2002. El plazo de inscripción para los cursos de Mejora genética vegetal, Planificación integrada para el desarrollo rural y la gestión del medio ambiente, Economía y gestión de la actividad pesquera y Acuicultura finaliza el 15 de Mayo 2004. El plazo de inscripción para el curso de Olivicultura y elaiotecnica finaliza el 15 de Abril 2005. El plazo de inscripción para los cursos de Producción animal y Marketing agroalimentario finaliza el 15 de Mayo 2005.

Los cursos de corta duración están orientados preferentemente a investigadores y profesionales relacionados en el desarrollo de sus funciones con la temática de los distintos cursos. El plazo de inscripción para los cursos de corta duración finaliza 90 días antes de la fecha de inicio del curso.

Becas. Los candidatos de países miembros del CIHEAM (Albania, Argelia, Egipto, España, Francia, Grecia, Italia, Líbano, Malta, Marruecos, Portugal, Túnez y Turquía) podrán solicitar becas que cubran los derechos de inscripción, así como becas que cubran los gastos de viaje y de estancia durante el curso. Los candidatos de otros países interesados en disponer de financiación deberán solicitarla directamente a otras instituciones nacionales o internacionales.

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
MEDIO AMBIENTE	PROGRAMAS DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL PARA EL CONTROL DE INCENDIOS FORESTALES EN LA REGIÓN MEDITERRÁNEA	27 Sep/1 Oct. 04	Zaragoza	IAMZ/MMA-DGB/FAO/AECI
	*PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	4 Oct. 04/	Zaragoza 10 Jun. 05	IAMZ
	ECONOMÍA AMBIENTAL Y DE LOS RECURSOS NATURALES	24 Ene/4 Feb. 05	Zaragoza	IAMZ
	RESTAURACIÓN FORESTAL EN LA LUCHA CONTRA LA DESERTIFICACIÓN: INNOVACIONES, CONTROL DE CALIDAD Y EVALUACIÓN DE PROYECTOS	19-25 Sep. 05	Zaragoza	IAMZ/REACTION/CE-DG/Investigación
	NUEVAS ESTRATEGIAS PARA LA PLANIFICACIÓN INTEGRADA DE LOS RECURSOS HIDRICOS EN LA REGIÓN MEDITERRÁNEA	12-16 Dic. 05	Zaragoza	IAMZ
	MITIGACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA SEQUÍA: MÉTODOS, TÉCNICAS Y ALTERNATIVAS DE GESTIÓN	12-16 Feb. 06	Aleppo	IAMZ/ICARDA/FAO
	DIAGNÓSTICO, SEGUIMIENTO Y GESTIÓN DE LA SALUD DE LOS BOSQUES	20-25 Feb. 06	Zaragoza	IAMZ
	BALANCE DE CARBONO EN SISTEMAS AGRARIOS Y FORESTALES: EL POTENCIAL DE REDUCCIÓN DE EMISIONES Y LOS COMPROMISOS DEL PROTOCOLO DE KIOTO	27-31 Mar. 06	Barcelona	IAMZ/CREAF
	LOS INDICADORES AMBIENTALES COMO HERRAMIENTA DE APOYO A LA GESTIÓN SOSTENIBLE DEL MEDIO RURAL	8-12 Mayo 06	Zaragoza	IAMZ
	SISTEMAS DE AYUDA A LA DECISIÓN PARA EL DESARROLLO Y LA GESTIÓN MEDIOAMBIENTAL DE ZONAS RURALES	12-16 Jun. 06	Zaragoza	IAMZ
COMERCIALIZACIÓN	LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DEL COMERCIO Y SU IMPACTO EN EL COMERCIO INTERNACIONAL AGROALIMENTARIO	18-22 Oct. 04	Zaragoza	IAMZ/OMC
	ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN EL MARKETING AGROALIMENTARIO: NORMATIVAS, SISTEMAS Y REPERCUSIONES EMPRESARIALES	7-11 Mar. 05	Zaragoza	IAMZ
	TRAZABILIDAD Y ETIQUETADO DE LOS ALIMENTOS: RESPUESTA A LOS REQUERIMIENTOS DE SEGURIDAD Y DE MERCADO	14-18 Mar. 05	Zaragoza	IAMZ
	MARKETING DE FRUTAS Y HORTALIZAS EN FRESCO	11-22 Abr. 05	Zaragoza	IAMZ
	ESTRATEGIAS DE MARKETING EN EL MERCADO INTERNACIONAL DEL VINO	16-20 Mayo 05	Zaragoza	IAMZ
	*MARKETING AGROALIMENTARIO	3 Oct. 05/9 Jun. 06	Zaragoza	IAMZ
PESCA Y AGRICULTURA	DIAGNÓSTICO Y CONTROL DE ENFERMEDADES DE PECES EN ACUICULTURA MARINA MEDITERRÁNEA	13-24 Sep. 04	Santiago de Compostela	IAMZ/Univ. Santiago de Compostela
	*ECONOMÍA Y GESTIÓN DE LA ACTIVIDAD PESQUERA	27 Sep. 04/18 Mar. 05	Barcelona	Univ. Barcelona/ MAPA/FAO/IAMZ
	*ACUICULTURA	6 Oct. 04/8 Abr. 05	Las Palmas de Gran Canaria	ULPGC/CCM/IAMZ
	DISEÑO Y GESTIÓN DE CRIADEROS DE MOLUSCOS BIVALVOS	14-19 Feb. 05	Zaragoza	IAMZ/FAO
	ESTABLECIMIENTO Y GESTIÓN DE ÁREAS MARINAS PROTEGIDAS DE INTERÉS PESQUERO	7-12 Mar. 05	Palma de Mallorca	IAMZ/IEO
	USO DE LOS SISTEMAS DE INFORMACIÓN GEOGRÁFICA EN PESCA Y ACUICULTURA	13-24 Jun. 05	Zaragoza	IAMZ/AECI
	TRAZABILIDAD DE PRODUCTOS DEL MAR: SISTEMAS Y TÉCNICAS	17-21 Oct. 05	Zaragoza	IAMZ/FAO
	MEJORAS TECNOLÓGICAS EN ARTES DE PESCA PARA UNA GESTIÓN SOSTENIBLE	6-10 Feb. 06	Zaragoza	IAMZ
	ACUICULTURA MEDITERRÁNEA Y GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	24-28 Abr. 06	Murcia	IAMZ/CAA-CARM
	CULTIVO DE ALGAS MARINAS: TÉCNICAS, USOS Y PERSPECTIVAS DE DESARROLLO	22-26 Mayo 06	Zaragoza	IAMZ

Información e inscripción. Los folletos informativos de cada curso se editan 6-8 meses antes de la fecha de inicio. Dichos folletos, así como los correspondientes formularios de inscripción pueden solicitarse a la dirección del IAMZ u obtenerse directamente de la página web:

Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza

Apartado 202 - 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA)
Teléfono +34 976 716000 - Fax +34 976 716001 - e-mail iamz@iamz.ciheam.org
www.iamz.ciheam.org

INSCRIPCIÓN EN AIDA

* Si desea Ud. pertenecer a la Asociación, rellene la ficha de inscripción así como la carta para la domiciliación del pago de la cuota de asociado y envíelas a AIDA. Apto. 727. 50080 Zaragoza.

El abajo firmante solicita su inscripción como miembro de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario.

Apellidos Nombre

Dirección postal

Teléfono

Profesión Empresa de trabajo

Área en que desarrolla su actividad profesional

CUOTA ANUAL:

Firma.

☐ ITEA 30 €

FORMA DE PAGO:

☐ Cargo a cuenta corriente o libreta

☐ Cargo a tarjeta

☐ Cheque bancario

☐ VISA

Tarjeta número:

☐ MASTERCARD

☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐

Fecha de caducidad: /

SR. DIRECTOR DE

Muy Sr. mío:

Ruego a Vd. se sirva adeudar en la cuenta cte./libreta n.º que matengo en esa oficina, el recibo anual que será presentado por la "Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario".

Atentamente,

Firmado:

BANCO O CAJA DE AHORROS:

SUCURSAL:

DIRECCIÓN CALLE/PLAZA: N.º

CÓDIGO POSTAL:

POBLACIÓN:

INFORMACIÓN PARA AUTORES

Esta información puede encontrarse también en www.aida-itea.org

Tipo de artículos que pueden ser enviados para su consideración al Comité de Redacción: se admite todo aquel que contribuya al intercambio de información profesional y trate de los más recientes avances que existan en las distintas actividades agrarias.

Una *información para autores* más detallada puede ser solicitada al Comité de Redacción. Rogamos sea leída detenidamente, prestando atención especial a los siguientes puntos:

CONDICIONES GENERALES

Los artículos, en castellano, serán enviados por triplicado a:

Sr. Director de la Revista ITEA - Apartado 727 - 50080 ZARAGOZA

RECOMENDACIONES EN LA PREPARACIÓN DE LOS ORIGINALES

La extensión máxima será de 25 folios de texto mecanografiado a doble espacio, cuadros y figuras incluidos. Los artículos que superen dicha extensión serán considerados sólo excepcionalmente.

Los artículos se remitirán a dos evaluadores anónimos expertos en el tema y el autor recibirá un informe del Comité de Redacción con las correcciones de dichos evaluadores. Una vez realizadas las correcciones, el autor enviará un sólo ejemplar mecanografiado y una copia en disquete, para agilizar el trabajo en imprenta. Si el Comité de Redacción considera que se han atendido las consideraciones del informe, enviará una carta de aceptación al remitente, y el artículo pasará de inmediato a imprenta.

Los autores recibirán un juego de las primeras pruebas de impresión que deberán ser revisadas y devueltas rápidamente a la Redacción. El retraso en el retorno de las pruebas determinará que el artículo sea publicado con las correcciones del Comité de Redacción.

El título no incluirá abreviaturas y será corto y preciso. En la misma página se incluirán los nombres completos de los autores, así como la dirección postal y nombre de la Entidad en donde se haya realizado el trabajo.

Se incluirá en primer lugar un resumen corto de 200-250 palabras y hasta seis palabras clave. Además, se añadirá un resumen en *inglés* de la misma extensión, sin olvidar el *título* traducido y las palabras clave (Keywords).

A continuación del resumen vendrá el artículo completo, procurando mantener una disposición lógica, considerando cuidadosamente la jerarquía de títulos, subtítulos y apartados.

Los dibujos, gráficos, mapas y fotografías deben titularse todos *figuras*. Los *cuadros* y *figuras* deben llevar numeración diferente, pero ambos en cifras árabes.

Los pies o títulos de cuadros y figuras deben redactarse de modo que el sentido de éstos pueda comprenderse sin necesidad de acudir al texto. Los títulos, pies y leyendas de los cuadros y figuras se traducirán al inglés y se incluirán en letra cursiva, bajo el correspondiente en español.

Los dibujos, gráficos, mapas, fotografías y diapositivas serán presentados en la mejor calidad posible.

En general se evitará el uso de abreviaturas poco conocidas, que en todo caso serán debidamente explicadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

En el *texto* las referencias deben hacerse mediante el apellido de los autores en mayúsculas seguido del año de publicación, todo entre paréntesis.

Al *final del trabajo*, y precedida de la mención *Referencias Bibliográficas*, se hará constar una lista alfabética de todas (y únicamente) las referencias utilizadas en el texto. En el caso de incluir varios trabajos del mismo autor se ordenarán cronológicamente.

Cuando se citen revistas⁽¹⁾, libros⁽²⁾, capítulos de libro⁽³⁾ y comunicaciones a congresos⁽⁴⁾ se hará según los siguientes ejemplos:

- (1) HERRERO J., TABUENCA, M.C., 1966. Épocas de floración de variedades de hueso y pepita. An. Aula Dei, 8 (1), 154-167.
- (2) STELL, R.G.D., Y TORRIE, J.H. 1986. Bioestadística: principios y procedimientos (segunda edición) 622 pp. Ed. McGraw-Hill. México.
- (3) GAMBORG O.L., 1984. Plant cell cultures: nutrition and media, pp. 18-26. En: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. Vol. 1, I.K. Vasil (Ed.), 825 pp. Ed. Academic Press, Orlando (EEUU).
- (4) ANGEL I., 1972. The use of fasciculate form (determinate habit) in the breeding of new Hungarian pepper varieties. Third Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum, 17-24, Universidad de Turín (Italia).