

## DETECCIÓN DE QTLs EN DISEÑOS F<sub>2</sub> MEDIANTE MARCADORES DOMINANTES

C. Óvilo, M.A. Toro

Área de Mejora Genética Animal, CIT-INIA, Madrid

### INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años se han desarrollado distintos métodos para identificar marcadores genéticos dominantes, tales como las técnicas RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA, Williams *et al*, 1990), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism, Vos *et al*, 1995) y RDA (Representational Difference Analysis, Lisitsyn *et al*, 1993).

Estas técnicas tienen como principal ventaja la posibilidad de trabajar con un número prácticamente ilimitado de marcadores en estudios de QTLs, representando todas las regiones del genoma y con un bajo coste. Sin embargo, estos marcadores no se han utilizado en estudios de detección de QTLs en animales domésticos debido a la falta de mapas genéticos y a la menor eficiencia en la estimación de los efectos de los QTLs respecto a los marcadores codominantes.

Los objetivos de este estudio han sido comparar la utilización de marcadores individuales dominantes y codominantes en un diseño F<sub>2</sub> para detectar ligamiento entre marcadores y QTLs, así como evaluar distintas técnicas de Genotipado Selectivo usando marcadores dominantes: a) Genotipado Selectivo Standard (Darvasi & Soller, 1992), con distinto número de individuos F<sub>2</sub> genotipados o evaluados para el carácter; b) Genotipado selectivo basado en desviaciones de la media familiar.

### MÉTODOS

#### Diseño F<sub>2</sub>

Líneas parentales	2σ línea A x 40♀ línea B
F <sub>1</sub>	8σ x 80♀
F <sub>2</sub>	640 individuos

#### Simulación

Se utilizó simulación Monte Carlo para producir un cruce F<sub>2</sub> entre dos líneas A y B, con un carácter cuantitativo controlado por un QTL con dos alelos fijados alternativamente en las líneas parentales, siendo los efectos de estos alelos  $a/2$  y  $-a/2$ , más 30 genes de efecto pequeño ( $h^2 = 0.10, 0.30, 0.50$ ) y un efecto ambiental común ( $c^2 = 0.0, 0.20$ ).

Para el estudio de ligamiento se simuló un locus marcador con dos alelos (M y m) fijados en las líneas parentales, siendo  $r$  la frecuencia de recombinación entre el QTL y el marcador. Los individuos de la generación F<sub>2</sub> se agruparon según el genotipo del marcador y se buscaron diferencias significativas entre las medias del valor genotípico del QTL para estos grupos mediante un análisis de varianza jerárquico simple. El número de repeticiones fue de 10.000

**RESULTADOS**

**Detección de ligamiento entre QTL y marcador**

La imposibilidad de detectar los genotipos heterocigotos cuando se utilizan marcadores dominantes provoca una disminución en la diferencia entre los valores del carácter para los dos genotipos:  $E(M\_)-E(mm) = 4/3a(1-2r)$ , comparada con la obtenida al utilizar marcadores codominantes:  $E(MM)-E(mm) = 2a(1-2r)$ .

Como consecuencia de esta menor diferencia entre los valores genotípicos del carácter, la potencia del diseño F2 cuando se utilizan marcadores dominantes es ligeramente inferior a la obtenida con marcadores codominantes. Esta disminución en la potencia es más evidente al disminuir el efecto del QTL o al aumentar la frecuencia de recombinación entre el marcador y el QTL. Sin embargo, si por razones de coste o sencillez los marcadores dominantes pueden utilizarse en mayor número que los codominantes (lo que implicaría un menor valor de r) la comparación puede ser favorable a los primeros.

Tabla 1. Potencia experimental de diseños F2 usando marcadores dominantes (negrita) o codominantes para distintos efectos del QTL y distintas frecuencias de recombinación.

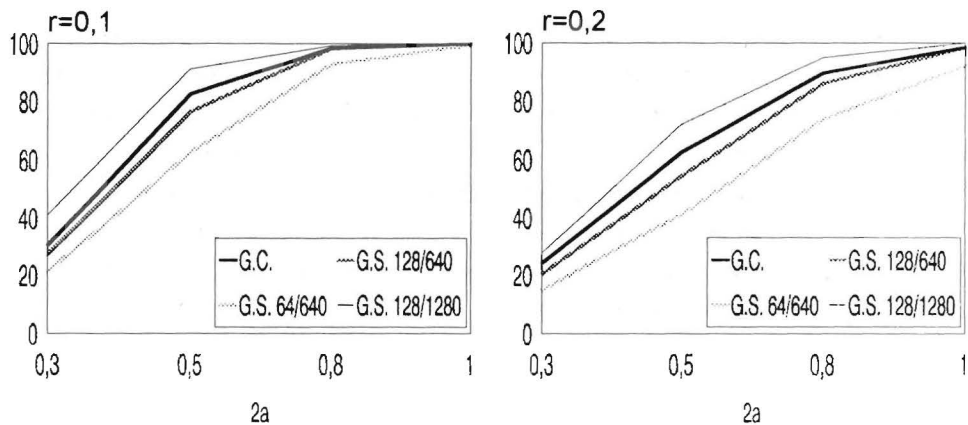
2a =	r =	0	0.1	0.2	0.5
0		4.7	5.4	5.3	5.8
		<b>4.8</b>	<b>5.7</b>	<b>5.6</b>	<b>4.4</b>
0.25		52.4	33.7	23.6	6.1
		<b>48.3</b>	<b>30.6</b>	<b>24.1</b>	<b>5.0</b>
0.50		98.5	90.4	67.5	5.8
		<b>95.2</b>	<b>82.6</b>	<b>62.6</b>	<b>5.2</b>
0.75		100	99.8	95.0	5.2
		<b>99.8</b>	<b>98.5</b>	<b>89.5</b>	<b>4.6</b>
1		100	100	99.6	6.4
		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>98.5</b>	<b>4.7</b>

**Genotipado selectivo**

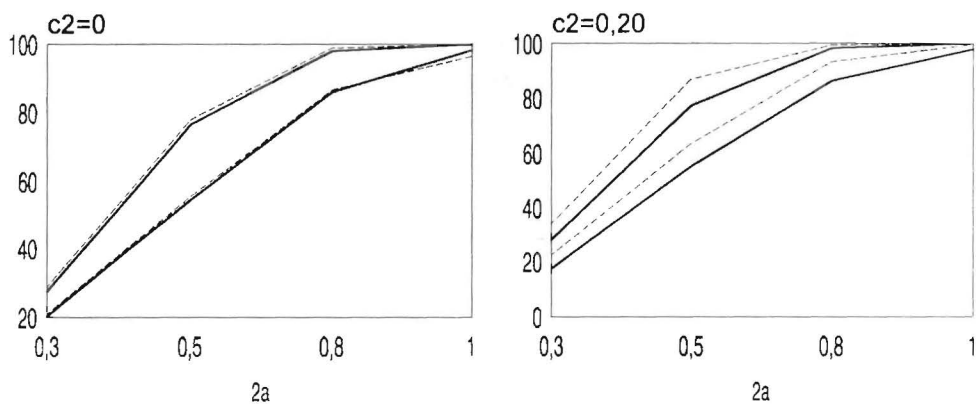
En general el genotipado selectivo permite reducir los costes de laboratorio a expensas de una disminución de la potencia de detección de QTLs, aunque puede observarse que el incremento en el número de registros del carácter permite obtener una potencia superior al genotipado completo, por lo que el balance de los costes de la medida del carácter frente al genotipado determina la utilidad de esta técnica (Figura 1).

El genotipado selectivo puede aplicarse eligiendo los individuos a genotipar en base a las desviaciones individuales respecto a la media familiar. Esta técnica permite superar la potencia del diseño con respecto al genotipado selectivo standard en los casos en que existen efectos ambientales comunes (Figura 2). Asimismo, se ha comprobado que este tipo de genotipado es también ventajoso para valores altos de la heredabilidad ( $h^2 = 0,50$ ).

**Fig 1.** Potencia experimental de diseños F2 de detección de QTLs, con Genotipado Completo (G.C.), o Selectivo (G.S.) de distinta proporción de individuos usando marcadores dominantes.  $h^2=0,30$ ,  $c^2=0$



**Fig 2.** Potencia experimental de diseños F2 de detección de QTLs, con Genotipado Selectivo Standard (líneas continuas) y Genotipado Selectivo basado en desviaciones de la media familiar (líneas discontinuas). Se representa en cada gráfica la potencia del diseño para  $r=0,1$  y  $r=0,2$  (líneas superiores e inferiores respectivamente). En todos los casos el porcentaje genotipado es el 20% (128/640).  $h^2=0,30$



### Referencias

- Darvasi & Soller, 1992. *Theoretical Applied Genetics*, 85: 353-359  
 Lisitsyn *et al*, 1993. *Science*, 259: 946-951  
 Lisitsyn *et al*, 1994. *Nature Genetics*, 6: 57-63  
 Vos *et al*, 1995. *Nucleic Acid Research*, 23(21):4407-4414  
 Williams *et al*, 1990. *Nucleic Acid Research*, 18(22):6531-6535