

BARRIDO GENÓMICO CON EL SNP-CHIP OVINO 50K PARA LA DETECCIÓN DE QTL CON INFLUENCIA SOBRE LA RESISTENCIA A NEMATODOS INTESTINALES EN EL GANADO OVINO DE RAZA CHURRA: ANÁLISIS DE LIGAMIENTO PARA EL RECuento DE HUEVOS EN HECES

Atlija¹, M., Gutierrez-Gil¹, B., Martinez Valladares², M., de la Fuente¹, L. F., Arranz¹, J. J.
¹ Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071 León. ² Instituto de Ganadería de Montaña. CSIC-ULE, 24346 Grulleros, León.
e-mail: matl@unileon.es

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por nematodos gastrointestinales (GIN) en el ganado ovino siguen siendo una de las enfermedades parasitarias más prevalentes en el ganado ovino, causando importantes pérdidas económicas debido a sus efectos negativos sobre el crecimiento en corderos y la producción de leche en ovejas adultas. El control de GIN en rumiantes se basa en gran medida en el uso de fármacos antihelmínticos en combinación con estrategias de manejo de las zonas de pastoreo. El incremento en la prevalencia de la resistencia parasitaria a los antihelmínticos ha llevado, en los últimos años, a la búsqueda de métodos de controles alternativos entre los cuales cabe destacar la selección genética hacia una mayor resistencia de los animales a estas infecciones parasitarias. Existen varios fenotipos asociados a la resistencia a las GIN. El recuento de huevos en heces, o FEC (de inglés *Faecal egg count*), es el indicador tradicional usado más comúnmente para valorar el nivel de infección parasitaria en base al número de huevos por gramo de heces. Este carácter también pone de manifiesto el producto de los nematodos adultos establecidos y la fecundidad media de las poblaciones parasitarias residentes (Bishop & Stear, 2000). Otros indicadores del nivel de infección parasitaria son el nivel plasmático de inmunoglobulina A (IgA) y de pepsinógeno (Peps). Estudios previos han identificado QTL en relación a la resistencia ovina a GIN (Crawford et al., 2006; Marshall et al., 2009; Gutiérrez-Gil et al., 2009). Es de señalar el barrido genómico basado en 181 marcadores microsatélites realizado en una población de ganado ovino lechero de raza Churra (Gutiérrez-Gil et al., 2009) en el que se identificó un QTL significativo a nivel de significación genómico en el cromosoma OAR6, y otros cuatro QTL a nivel cromosómico en OAR1, OAR10 y OAR14. En el presente trabajo se presentan los resultados de un análisis de ligamiento para el carácter FEC realizado en otra población ovina de raza Churra genotipada con el SNP-chip ovino de media densidad (*Illumina OvineSNP50 BeadChip*).

MATERIAL Y MÉTODOS

Las medidas fenotípicas para el carácter en estudio se obtuvieron de un total de 596 ovejas adultas de raza Churra repartidas en 21 rebaños, de manejo semiextensivo, distribuidos en 8 de las provincias de Castilla y León. Los animales muestreados están distribuidos en 15 familias de medio-hermanas del núcleo de selección de ANCHE. El tamaño medio por familia fue de 33 hijas por macho. Se realizó un único muestreo por rebaño, en el que se obtuvieron para cada animal muestras de heces y sangre. Las heces se recogieron directamente del recto y fueron procesadas para determinar el número de huevos por gramo de heces utilizando una modificación del método McMaster (MAFF, 1986). Tras la transformación logarítmica de los datos, se obtuvieron los valores fenotípicos, estimados como la desviación de la media poblacional del dato fenotípico bruto de cada animal corregido para el efecto rebaño que, debido al diseño experimental, englobó otros factores ambientales relevantes. Se analizaron 43 784 SNPs que habían pasado el control de calidad de genotipos descrito en un trabajo previo (García-Gómez et al., 2012), donde también se elaboró el mapa genético para la población en estudio con una equivalencia de 1 Mb ~ 1 cM para convertir las distancias físicas en distancias genéticas. Para el análisis de ligamiento realizado en los 26 autosomas ovinos se utilizó el programa *QTLMap* (Filangi et al., 2010). Los umbrales de significación a nivel *chromosome-wise* (p_c -value) se obtuvieron mediante un test de permutaciones y a nivel genómico considerando que se analizaron 26 autosomas independientes (*genome-wise*; p_g -value). Para los QTL significativos identificados se calculó el intervalo de confianza (IC) mediante el método LOD drop-off (Lander & Botstein 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de ligamiento realizado para el carácter estatura a lo largo del genoma autosómico ovino identificó tres QTL a nivel de significación del 5% *chromosome-wise* en OAR4, 6 y 25, y un QTL significativo al nivel 1% *chromosome-wise* en OAR8 (Figura 1). La caracterización de los QTL detectados en el análisis de toda la población (*across-family*) se muestra en la Tabla 1, donde también se puede encontrar información relativa a las familias que mostraron evidencias significativas de segregación de los QTL identificados a nivel poblacional. Para el QTL menos significativo, localizado en OAR25, se identificaron dos familias segregantes, mientras que en los otros tres casos fueron tres las familias que en el análisis intrafamiliar mostraron p_c -values < 0.05. La posición del QTL sugerida por los análisis intrafamiliares discrepó en algunos casos de la posición del pico del QTL en el análisis intrafamiliar, lo que puede deberse a diferencia en la informatividad de los marcadores o, alternativamente, de la presencia de diferentes QTL segregantes entre las diferentes familias.

Figura 1. Resultados del análisis de ligamiento realizado en la población ovina analizada en este estudio para el carácter FEC

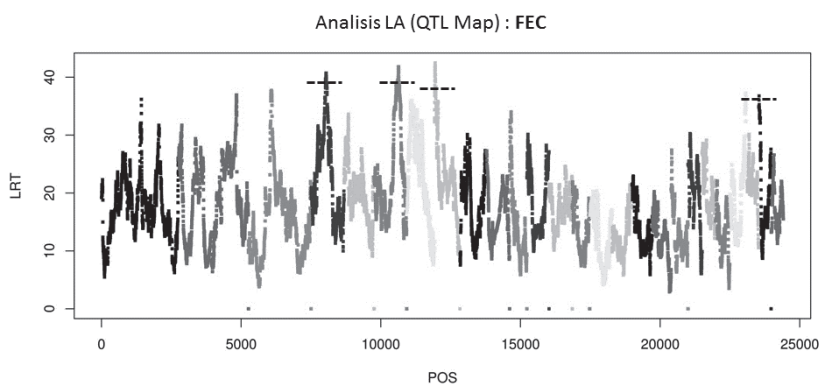


Tabla 1. Caracterización de los QTL identificados a nivel poblacional para el indicador de resistencia a parasitosis gastrointestinales FEC. Se muestran, también los resultados del análisis intrafamiliar para las familias que mostraron evidencia estadística de segregación para alguno de los QTL detectados (p_c -value < 0.05).

OAR	LRT max.	Pos. (cM) LRT max.	Marcadores flaqueantes LRT max.	IC (cM)	Familias segregantes (p_c < 0.05)	LRT max.	Pos. (cM) LRT max
4	40.70	54.54	[OAR4_58493210.1 - OAR4_58541568.1]	51.5 - 57.6	fam. 01 fam. 04 fam. 05	11.73 9.70 10.79	54.84 117.94 48.34
6	41.81	87.81	[OAR6_95930760.1 - OAR6_96088929.1]	80.7 - 91.5	fam. 01 fam. 07 fam. 11	10.98 8.73 9.49	95.11 90.21 86.91
8	42.48	2	[OAR8_2125287.1 - OAR8_2209080.1]	1.0 - 3.6	fam. 02 fam. 04 fam. 11	7.77 12.47 9.86	6.40 31.30 1.80
25	36.77	0.88	[OAR25_1031652.1 - s21252.1]	0.1 - 4.1	fam. 05 fam. 16	12.10 13.47	43.28 2.68

El QTL identificado en la parte media de OAR4 se localizó cerca de un QTL previamente descrito para FEC (*Haemonchus contortus*) por Marshall et al. (2009). A este respecto, la coincidencia más destacable fue la identificada en OAR6, ya que el IC aquí estimado para este QTL se solapa con el intervalo flanqueante del QTL más significativo identificado en Churra para la resistencia parasitaria a GIN, y que influía también el recuento de huevos en heces (Gutiérrez-Gil et al., 2009). Los dos QTL identificados en OAR8 y OAR25 se

localizaron en el extremo proximal del correspondiente grupo de ligamiento. Estos cromosomas también contienen QTL previamente descritos en relación a la resistencia a GIN, aunque en ambos casos el máximo estadístico de esos QTL se localiza en una región más distal del cromosoma (Marshall et al., 2009; Crawford et al., 2006) que la identificada como candidata en el presente estudio. Con el objetivo de confirmar los resultados aquí presentados e identificar nuevas regiones de interés, pretendemos realizar análisis adicionales basados en el análisis de ligamiento combinado con análisis de desequilibrio de ligamiento (LDLA) o análisis de asociación a nivel genómico (GWAS). Del mismo modo se planea el estudio de otros fenotipos indicadores de resistencia a GIN, como el nivel plasmático de IgA. La identificación del QTL del cromosoma 6, localizado en la misma región y con efectos sobre el mismo carácter que el descrito anteriormente por Gutiérrez-Gil et al. (2009), sugiere la confirmación de dicho efecto e indicaría la conveniencia de centrar esfuerzos en el mapeo fino de dicha región.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bishop S.C. & Stear M.J. 2000. *Parasitology*, 121: 435-440.
- Crawford A.M., Paterson K.A., Dodds K.G., Diez Tascon C., Williamson P.A., Roberts Thomson M., et al. 2006. *BMC Genomics* 18:178.
- Filangi O., Moreno C., Gilbert H., Legarra A., Le Roy P., Elsen J.M. 2010. *Proceedings of the 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production: 1-6 August; Leipzig*.
- García-Gómez E., Sahana G., Gutiérrez-Gil B., Arranz J.J. 2012. *BMC Genet.* 13:43.
- Gutiérrez-Gil B., Pérez J., Álvarez L., Martínez-Valladares M., de la Fuente L.F., Bayón Y., Meana A., San Primitivo F., Rojo-Vázquez F.A., Arranz J.J. 2009. *Genet Sel Evol.* 28:41-46.
- Lander E.S., Botstein D. 1989. *Genetics* 121: 185-99.
- MAFF (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food). 1986. *Manual of Veterinary Parasitological Laboratory Techniques*, 3rd edn. London, GB.
- Marshall K., Maddox J.F., Lee S.H., Zhang Y., Kahn L., Graser H.U. et al. 2009. *Anim Genet.* 40: 262-72.
- McKellar Q.A., Duncan J.L., Armour J., & McWilliam P. 1986. *Res Vet Sci* 40, 367-371.
- Smith W.D., Jackson F., Jackson E., & Williams J. 1985. *Journal of Comparative Pathology* 95, 235-245.
- Stear M.J., Bishop S.C., Doligalska M., Duncan J.L., Holmes P.H., Irvine J., McCririe L., McKellar Q.A., Sinski E., Murray M. 1995. *Parasite Immunol.* 17: 643-652.
- Ziegler I.R., König F.P. 2010. *A Statistical Approach to Genetic Epidemiology: Concepts and Applications*. 2nd Ed. Wiley-Blackwell.

Agradecimientos: Este trabajo está financiado por los proyectos LE245- A12-2 financiado por la Junta de Castilla y León y *NematodeSystemHealth-Initial Training Network* de la Comisión Europea. M.A. Está financiada por el proyecto *NematodeSystemHealth-Initial Training Network*.

A GENOME SCAN WITH THE OVINE 50K SNP-CHIP FOR THE DETECTION OF QTL INFLUENCING RESISTANCE TO GASTROINTESTINAL NEMATODES IN SPANISH CHURRA SHEEP: LINKAGE ANALYSIS FOR FAECAL EGG COUNT.

ABSTRACT: Infections with gastrointestinal nematodes (GIN) remain one of the most prevalent parasitic diseases causing major economic losses in the sheep industries worldwide. In the last years, the increasing prevalence of resistance to anthelmintic has led to the search for alternative control methods such as selective breeding for increased GIN resistance. This study presents a linkage analysis for detection of QTL for faecal egg count (FEC), the traditional indicator trait commonly used to assess the level of GIN by the number of eggs per gram of faeces, in a commercial population of Spanish Churra sheep. The resource population included 596 adult ewes from 21 flocks and 15 half-sib families of the selection nucleus of the Churra sheep breeding programme. Faecal samples were collected from the studied animals for which genotypes for the Illumina OvineSNP50 BeadChip were already available. Chromosome-wise significant QTL were detected on chromosomes 4, 6, 8 and 25. The QTL identified on the first two of these chromosomes showed interesting coincidences with QTL previously reported in sheep for indicators of resistance to GIN. The results reported here suggest that the most significant QTL previously reported for FEC in Churra sheep by a microsatellite-based genome scan, on chromosome 6, is confirmed in the new analysed population.

Keywords: sheep, gastrointestinal nematode infection, resistance, QTL, linkage