

PROGRAMA DE SELECCIÓN GENÓMICA EN RAZA RUBIA GALLEGA (*BOS TAURUS*) UTILIZANDO UN CHIP DE ALTA DENSIDAD

- Este Proyecto representa una **iniciativa clave** para que la Raza Rubia Gallega se incorpore a estándares internacionales en la aplicación de **metodologías genómicas para mejorar la precisión en la selección**, de acuerdo con las demandas del sector y el mercado.
- Desarrollado por un consorcio coordinado por la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Vacuno Selecto de Raza Rubia Gallega (**ACRUGA**), incluye a expertos en genotipado de SNPs a nivel genómico (**Xenética Fontao**), en Genética Cuantitativa y Selección Genómica (**UNIZAR**) y en Genética de poblaciones y Genómica (**USC**). Posteriormente, se incorporaron también expertos en Producción y Mejora Animal de la Facultad de Veterinaria de la **USC**, y expertos en la evaluación de consanguinidad genómica y huellas de selección mediante metodología ROH (USC).
- Por primera vez, se ha aplicado un **programa de selección genómica en Raza Rubia Gallega**, genotipándose ~3500 animales con el chip Axyom que incluye **~67.000 marcadores (SNPs)**. Esto ha permitido realizar una selección más precisa que la actual y posibilita incluir otros los caracteres de interés relacionados con reproducción, bienestar, y otros difíciles de caracterizar fenotípicamente. Además, también permite sustituir el análisis de parentesco de microsatélites a un coste muy similar y con mucha mayor precisión.
- El proyecto también ha servido para la **formación de los técnicos de ACRUGA** en relación con la selección y tecnologías genómicas, mediante sendos cursos impartidos por expertos de UNIZAR y USC, e iniciar la divulgación de la importancia de las herramientas genómicas para la selección entre los ganaderos del sector.
- Este proyecto representa el comienzo de un **camino para potenciar la Raza Rubia Gallega**, posicionada entre las mejores razas de carne españolas, en línea con los estándares internacionales, aplicando las nuevas tecnologías y realizando un manejo y toma de datos mucho más preciso, que redundará en una **mejora de la producción** para los ganaderos.

Genotipado de los candidatos para la selección

Se genotiparon 3.489 individuos con el **Applied Biosystems Axiom Bovine Genotyping v3 Array (~67.000 SNPs)**, en cooperación con la *Encomienda del Ministerio para la aplicación de selección genómica en razas de vacuno autóctonas españolas*.

Entre los animales genotipados se incluyeron 486 machos con más de 50 descendientes y 207 con más de 10, y entre las hembras analizadas, 754 tenían más de 5 hijos (Figura 1).

Esta población constituye, junto con la base de datos fenotípica y genealógica de ACRUGA, la población de referencia para la puesta en marcha de un **procedimiento de evaluación genómica** que se implantará con la próxima valoración genética de reproductores.

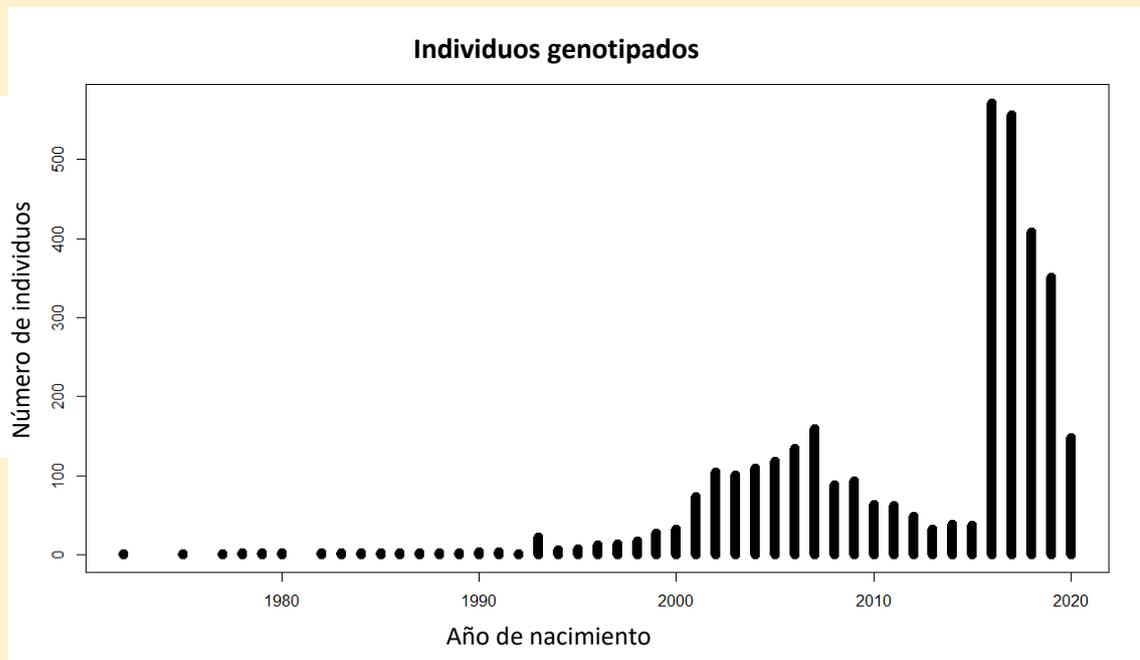


Figura 1. Distribución de los animales genotipados por año de nacimiento.

Estimación del parentesco genómico en los individuos fenotipados y sustitución del test de paternidad con la información del chip de SNPs

Se ha realizado la matriz de parentesco genómico mediante el procedimiento de VanRaden (2008) (Tabla 1). Además, las **estimaciones genómicas de paternidad y parentesco** a partir de los datos proporcionados por el chip Axiom Bovine Genotyping v3 Array han demostrado ser **tanto o más fiables** que los realizados **mediante el panel de microsatélites** utilizado hasta ahora y a un coste muy similar.

Tabla 1. Distribución de los parentescos genómicos estimados entre los individuos genotipados.

Parentesco	Número Parentescos	Porcentaje
<0,05	4.914.220	41,53%
0,05-0,15	6.489.576	54,85%
0,15-0,30	384.328	3,24%
0,30-0,50	37.540	0,32%
>0,50	4.496	0,04%
TOTAL	11830160	100,00%

Arquitectura genética de los caracteres objetivo de la selección

Los datos genotípicos se utilizaron para obtener información sobre la base genética de los caracteres objeto de selección, **habiéndose identificado genes candidatos**, que servirán para evaluar **modelos más precisos de selección**.

Se ha realizado un análisis de asociación GWAS para los 5 caracteres incluidos en los índices compuestos de selección (ICO-VIDA e ICO-CARNE) utilizados en el plan de mejora de la raza Rubia Gallega (**Peso al Nacimiento, Peso a los 210 días, Peso de la Canal Fría, Conformación y Engrasamiento**). Se han identificado regiones de interés en los cromosomas 1, 2, 3, 6, 16 y 21 del genoma de *Bos taurus*, que contienen, entre otros, los siguientes genes candidatos: NCK1, MSTN, KCNA3, LCORL, NCAPG y RIN3 (Figura 2).

Además, se ha realizado un análisis de asociación de genoma completo para al carácter **“supervivencia”** medido como el **número de partos** que puede alcanzar una vaca, que ha permitido identificar 3 regiones genómicas localizadas en los cromosomas 15, 19 y 21, que contienen, entre otros, los siguientes potenciales genes candidatos: DRD2, SRP68, FBF1, CPSF2 y SLC24A4 (Figura 3).

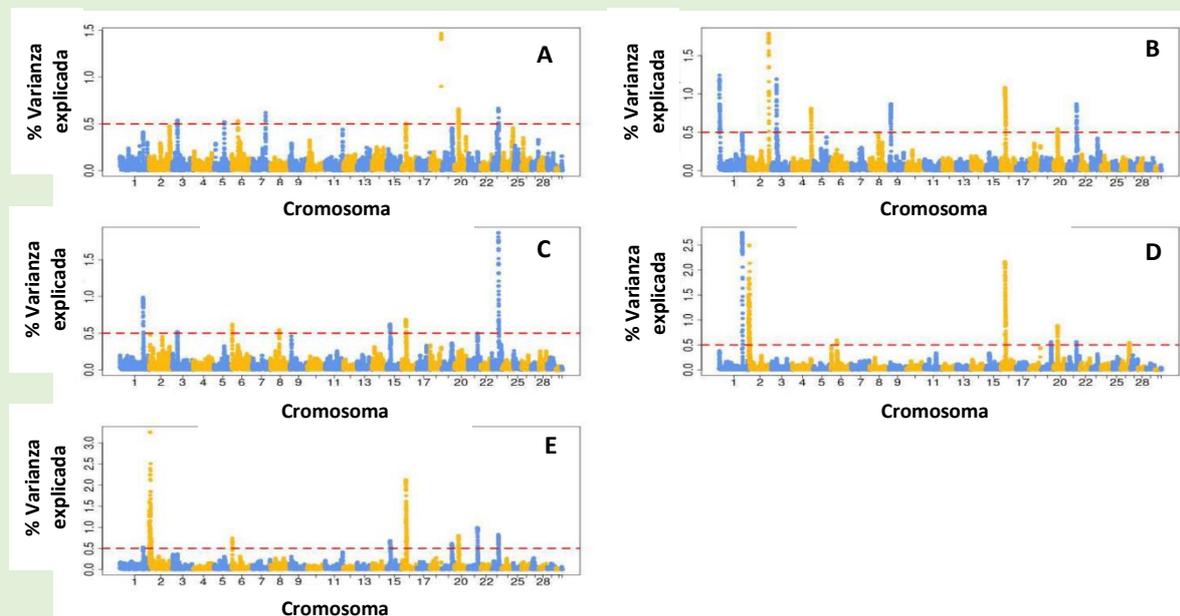


Figura 2. Distribución del porcentaje de varianza genética aditiva explicada a lo largo del genoma autosómico para los caracteres Peso al Nacimiento (A), Peso a los 210 días (B), Peso de la Canal Fría (C), Conformación (D) y Engrasamiento (E).

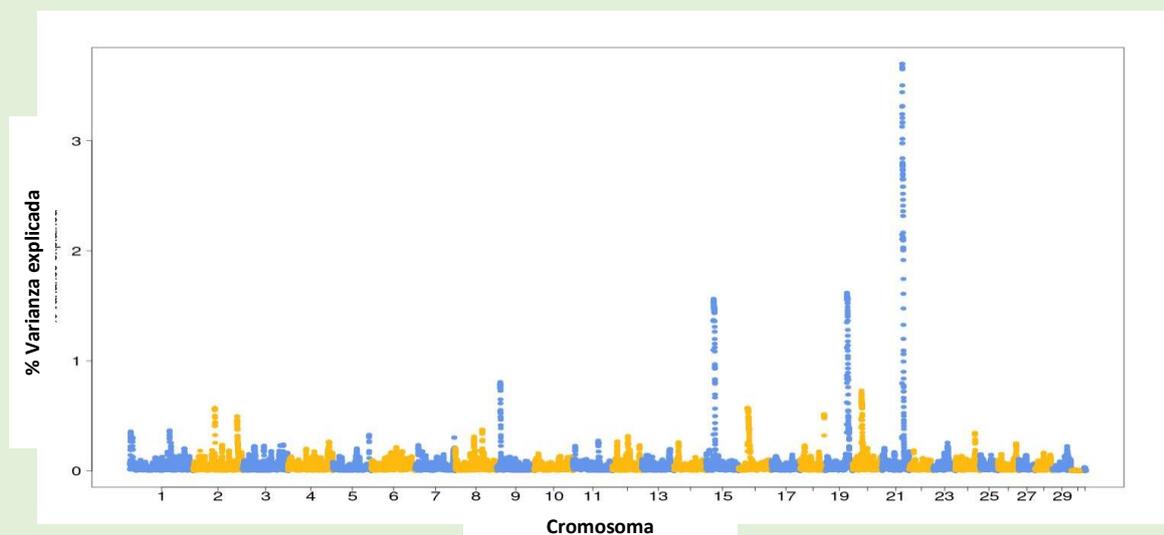


Figura 3. Distribución del porcentaje de varianza genética aditiva explicada a lo largo del genoma autosómico de *Bos taurus* para el carácter supervivencia.

Evaluación de la diversidad y estructura genética y desarrollo de una herramienta coste-efectiva para la identificación de Raza Rubia y sus híbridos con otras razas de carne españolas

Los datos del Axyom Array han permitido evaluar la **estructuración genética** de la Raza Rubia Gallega y su relación con las otras razas de carne españolas, pudiéndose identificar un subconjunto de marcadores que podrán usarse para la **asignación de raza y sus híbridos**.

El estudio de diversidad se abordó explorando distintos criterios de subestructura de la población, como la provincia de origen, y posteriormente se tuvieron en cuenta las **comarcas o áreas sanitarias**. La mayoría de las muestras proceden de la provincia de Lugo.

En el análisis por provincias se detectó un valor del coeficiente de diferenciación genética global $F_{st} = 0,0024$, que a pesar de ser muy bajo, resultó significativo ($P < 0,001$). Los valores de las comparaciones de F_{st} por pares fueron también bajos (Tabla 2).

En el análisis por comarcas, el valor global de F_{st} resultó también bajo ($F_{st} = 0,0047$), aunque altamente significativo ($P < 0,001$) y el doble según el criterio provincial. Los valores de las comparaciones por pares fueron en general bajos, aunque alrededor de la mitad altamente significativos (Tabla 3).

El análisis de estructura mostró de nuevo que **apenas existe estructuración** apreciable en la población de Rubia Gallega. Por último, se realizó una estima del **censo efectivo** poblacional (N_e), arrojando un valor de censo efectivo (N_e) de 155,0 (Intervalo de confianza del 95% basado en jackknife: 150,9 – 159,2).

Para el desarrollo de la herramienta se identificaron un conjunto de **149 SNPs** con alta diferenciación genética entre Rubia Gallega y otras razas de carne españolas y francesas. A partir de esta información se realizarán simulaciones en diferentes escenarios para definir una herramienta molecular del menor coste posible, pero con potencia estadística suficiente, que permita **diferenciar las razas de carne** más utilizadas en cruzamientos con Rubia Gallega, así como sus posibles híbridos (Tabla 4).

ARS-BFGL-NGS-102269	0	0,00018	0	0,00028
ARS-BFGL-NGS-102542	0	0	0,00003	0,00049
ARS-BFGL-NGS-102717	0	0	0,0001	0
ARS-BFGL-NGS-102882	0	0	0	0,00016

Evaluación de consanguinidad genómica y huellas de selección mediante la aplicación de carreras de homocigosis (ROH: Runs of Homozygosity)

El análisis de la homocigosis del genoma a través de los ROHs es una **herramienta muy útil** y reciente que está siendo utilizada para analizar la estructura genética de caracteres complejos para **apoyar los programas de mejora genética**.

ROH: Se definen como **secuencias en el ADN que son idénticas por descendencia**, procedentes de un ancestro común de la población. En un contexto de producción animal las aplicaciones más interesantes tienen que ver con el estudio de la depresión consanguínea y la detección de huellas de selección y genes candidatos asociados.

En este Proyecto se han utilizado distintos programas y aproximaciones bioinformáticas organizadas en varias fases. La primera fase, en plena ejecución, consiste en determinar la precisión de las estimaciones de homocigosis genómica que obtenemos con la muestra de animales genotipados. Una vez obtenidas estimaciones precisas de homocigosis, se procede al análisis de los rasgos objetivo de selección.

En la segunda fase se analizará la **depresión consanguínea** de los rasgos objetivo a través de modelos estadístico-genéticos. Además de un efecto a nivel del genoma completo, también se buscarán ventanas genómicas independientes con efectos fuertes en depresión consanguínea.

En la tercera fase, en paralelo con la segunda, se realizará una búsqueda de **huellas de selección**, así como una minería de genes candidatos en las regiones identificadas. Para ello se analizarán las islas de ROH, regiones del genoma donde la probabilidad de que un individuo de la población sea homocigoto es muy alta.

Finalmente, se integrarán los resultados obtenidos en las diferentes fases con otros análisis del presente proyecto para su **aplicación a la mejora de la producción de Rubia Gallega**.

Los resultados preliminares muestran que el programa utilizado (PLINK) tiene ciertos problemas debido a que la densidad de marcadores genéticos utilizados en este proyecto no es muy elevada (Fig. 1), por lo que se están explorando otros métodos basados en modelos estadísticos.

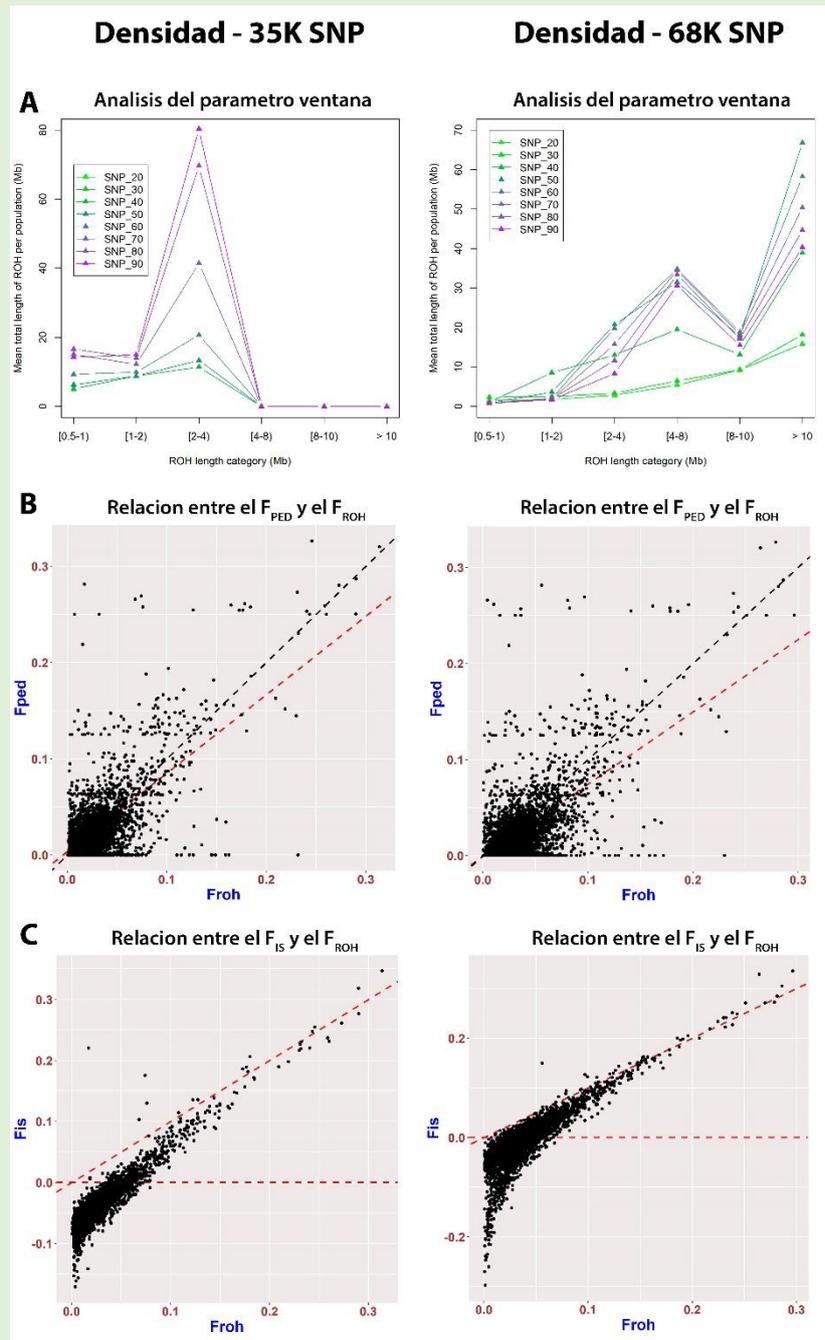


Figura 5. Análisis de la búsqueda de ROH utilizando PLINK. Análisis previos para la validación de las estimaciones de ROH obtenidas con PLINK. Dos densidades de marcadores genómicos diferentes: 45 mil SNP y 68 mil SNP. **A)** Análisis con distintos parámetros de ventana del software PLINK. **B)** Comparación entre las estimaciones del



coeficiente de consanguinidad genómico y el coeficiente de consanguinidad genealógico. C) Comparación entre el coeficiente de consanguinidad genómica total y el coeficiente de consanguinidad de Wright.

Foto fondo: ACRUGA

