Genómica ¿Sí, no, quizás?

INTRODUCCIÓN

Podemos definir la genómica como el campo de la ciencia que describe la arquitectura genética que sustenta los caracteres fenotípicos. Lo que empezó con la deducción de la estructura de doble hélice del ADN ha evolucionado hacia la secuenciación total del genoma de múltiples especies y el descubrimiento de miles de genes que codifican las proteínas que influyen en muchos caracteres importantes. Aunque el hombre es el mamífero cuyo genoma se ha secuenciado en su casi totalidad, entre los animales de granja, el genoma de los pollos y de los bovinos tiene ahora más del 85% de la secuencia genómica asignada a regiones cromosómicas específicas y el genoma porcino les seguirá en los próximos años. Los genomas de los mamíferos consisten típicamente en, aproximadamente 3 billones de pares de base de nucleótidos (por ejemplo, A, C, G, T) y aproximadamente 30.000 genes. Como parte de este proceso, se han descubierto los marcadores genéticos que se pueden utilizar como indicadores en todo el genoma que pueden estar ligados a *loci* de caracteres cuantitativos (QTL).

El descubrimiento de cientos de miles de marcadores de fácil medida, o polimorfismos de un sólo nucleótido (SNPs) ha originado una cobertura muy sólida del genoma junto con unos programas de genotipado relativamente baratos y de alto rendimiento. El desarrollo de la tecnología y la reducción de costes han llevado a varios proyectos ambiciosos y satisfactorios para escanear los genomas animales con marcadores o genes ligados a los QTL. Aunque muchos marcadores se han utilizado durante años, sólo recientemente se han tenido en cuenta asociaciones con marcadores de QTL de forma significativa, acelerando el proceso genético por selección asistida por marcadores (MAS). La pregunta que se están haciendo actualmente las asociaciones de ganaderos en todo el mundo es si son necesarias las inversiones en el campo de la genómica para seguir siendo competitivo. La respuesta, por supuesto, depende de muchos factores relacionados con la

disponibilidad de la tecnología, las especies y los caracteres de interés, el mayor rendimiento que origina el MAS y los posibles beneficios de esta inversión.

Este artículo intenta describir los factores técnicos y las posibles influencias que hay tener en cuenta para responder a esta cuestión.

¿ESTÁ PREPARADA LA TECNOLOGÍA?

Existían muchas limitaciones, que evitaban la adopción de la genómica a gran escala. Primero, la mayor limitación era el coste del genotipado. Los marcadores que se utilizaban en los años 90 (por ejemplo, microsatélites y polimorfismos por genotipo. Sin embargo, con la adopción de los SNP a gran escala en 2003 y el desarrollo paralelo de la automatización de programas de genotipado de alta producción, se ha conseguido reducir los costes, en los últimos cinco años, entre 50 y 100 centavos por genotipo. Affymetrix, un proveedor de genotipado de alta producción, ha anunciado un kit de genotipado de 100.000 SNPs que reducirá el coste aproximadamente en 1 centavo por cada SNP (Yap, 2004).

La siguiente limitación con la que hay que enfrentarse es la densidad del marcador. La densidad del marcador es importante porque las asociaciones entre el QTL y el marcador son relativamente débiles cuando los marcadores están situados a más de unos cuantos centimorgans (CM) de su real locus causal. Los marcadores anteriores eran más difíciles de encontrar y sólo unos cientos fueron utilizados para genomas de animales de granja, por eso, el escaneo del genoma sólo contaba con asociaciones marcador-QTL poco sólidas o irrepetibles. Sin embargo, debido en gran medida a los avances en la genómica humana, los costes de la secuenciación de ADN también han disminuido y han permitido la secuenciación a gran escala de los

genomas de animales de granja. Esto ha originado el descubrimiento de un número casi ilimitado de Polimorfismos de un Nucleótido Simple (SNP). Como resultado de un proyecto público de secuenciación del genoma bovino, se ha descubierto un potencial de más de 115.000 SNPs (Kappes et al. 2006). Los programas de genotipado ya están disponibles, lo que permite que cientos de miles de genotipos sean secuenciados inmediatamente y la barrera de la densidad del marcador también ha sido eliminada.

Ya que las especies de granja han estado bajo una selección relativamente intensa por los caracteres cuantitativos, es raro encontrar nuevos QTL que expliquen muchas de las diferencias. Esos loci tienden a estar ya fijados o se encuentran en una alta frecuencia debido a la selección tradicional. Existe una gran variación genética pero suele ser debido a la acción de cientos de loci, teniendo efectos pequeños o moderados cada uno. Estos QTL tienden a estar distribuidos a través del genoma y son difíciles de detectar sin exhaustivos experimentos de escaneo de genomas que dispongan de amplio poder estadístico. Afortunadamente, en el sector lácteo, existen muchas grandes familias de sementales con pedigrí, hijos y nietas disponibles con valores genéticos estimados para un rango de caracteres de importancia económica. Ahora que los costes de genotipado son menores y la densidad del marcador es alta, esas grandes familias pueden ser genotipadas con una precisión relativamente alta. Todavía no se sabe cuanta variación genética puede ser explicada pero, recientes escaneos de alta densidad de todo el genoma mediante el kit ParAllele's TM, con una matriz de 10.000 SNP detectaron 180 QTLs para la producción de proteínas (Hayes et al., 2006). Es probable que esos QTL expliquen una parte significativa de la varianza genética disponible. Como predijeron Hayes y Goddard (2001) en la figura 1, entre el 20-40 % de los QTL para un carácter dado pueden explicar la mayor parte de la varianza. Parece entonces, que las herramientas para detectar QTL que explican suficientemente la varianza para programas MAS efectivos, están ya disponibles y se están utilizando.

Figura 1. Proporción de la varianza genética explicada por QTL en los experimentos de mapeo del QTL (cerdos y ganado de leche) (Hayes y Goddard, 2001)

Los métodos para detectar el QTL en especies de vacuno de leche se ha implantado durante más de una década y han ido mejorando constantemente. Ahora la localización del QTL puede ser mapeada con precisión y el impacto del QTL se puede estimar fielmente. Sin embargo, una parte activa de la investigación es la utilización de la información de los marcadores en los programas de selección asistida por marcadores (MAS). La propuesta aceptada actualmente es incluir la información de QTL mediante marcadores de flanqueo o haplotipos de marcadores en los valores genéticos estimados, por ejemplo, mediante el método BLUP asistido por marcadores. Sin embargo, esos métodos pueden ser incómodos y de alto coste computacional y se está trabajando para mejorarlos. Un nuevo enfoque bastante prometedor es la predicción de un valor genético total de animales utilizando amplios mapas de marcadores del genoma. Por ejemplo, si la tecnología del genotipado continúa disminuyendo en costes, debería ser posible genotipar 3000 marcadores por cada animal para su utilización para la selección. Esta densidad debería originar una información más amplia de los QTL en el genoma, para que sea incluida simultáneamente en el valor genético. Se ha simulado este diseño (Meuwissen et al, 2001) y se ha mostrado una precisión en torno a 0.85 lo que es similar a la precisión de una prueba de progenie de primera tanda. La tecnología de genotipado está preparada para esta aplicación y se están desarrollando rápidamente el software y los métodos para hacer esto de forma rutinaria. Es importante sopesar el coste de ese genotipado intenso con el relativo beneficio adicional que se obtiene. Los cálculos previos del beneficio han demostrado que si aumenta significativamente la precisión del MAS, el ahorro relativo del coste puede justificar los costes (Schaeffer, 2006).

Oportunidades para una selección asistida por marcadores

Hay un acuerdo general de que los caracteres más beneficiados con el MAS son aquellos en los que los fenotipos son costosos de medir, sólo se expresan en un sexo, o son medibles sólo después de tomar una serie de decisiones de selección. Teóricamente, se ha simulado la aplicación del MAS durante, aproximadamente 20 años con predicciones de respuesta genética extra alcanzando hasta un 64% para los caracteres de canal donde los fenotipos están disponibles únicamente post-mortem (Meuwissen y Goddard, 1996). En el sector lechero, los caracteres de produc-

ción se expresan sólo en hembras y muchas decisiones de selección con respecto a las novillas se toman antes de la primera lactación. Los primeros estudios por parte de Meuwissen y Van Arendonk (1992) predijeron de un 8 a un 26% de beneficio genético adicional con el programa MAS en los rebaños lecheros del núcleo del esquema selección. Sin embargo, el uso más obvio del programa MAS está en la selección de toros jóvenes. Las pruebas de progenie requieren una preselección para la entrada de toros jóvenes, principalmente en base a la información del pedigrí, seguido de la selección multirebaños que resultan de la primera tanda de 100 o más hijas en lactación. La mayor utilidad del programa MAS es, obviamente la de aumentar la precisión de la preselección incluyendo la información de los marcadores además de la del pedigrí. En este escenario, una aplicación del MAS debería aspirar al mismo número de clasificadas con éxito pero, con mayor precisión, se podría reducir el número de toros jóvenes dentro de la prueba de progenie, mejorando la eficacia de costes del programa. Como se muestra en la figura 2, con el mismo número de toros jóvenes candidatos, se podría mantener el 95% de respuesta genética previa mientras se elimina a más del 80% de toros jóvenes utilizando información de marcadores.

Figura 2. Proporción de toros sacrificados utilizando marcadores o datos de pedigrí manteniendo el 95% de los beneficios genéticos previos (Schrooten et al, 2004)

Figura 3. Posibles beneficios genéticos adicionales utilizando MAS con igual o mitad del número de toros con progenie (Schrooten et al., 2004)

El otro extremo sería mantener el mismo número de toros dentro de una prueba de progenie con objeto de tener una mayor tasa de progreso genético utilizando toros jóvenes con marcadores en la preselección. Como hemos visto en la figura 3, Schrooten et al. (1994) mostraban que un programa de prueba de progenie podría alcanzar más de un 21.2% de beneficios genéticos con más rapidez si el 50% de la varianza genética se pudiera explicar mediante marcadores. Además, aunque el número de toros probados sea la mitad, una prueba de progenie podría alcanzar más del 19% de beneficios genéticos extra. La figura 3 también muestra que para mantener la tasa actual de avances genéticos con la mitad de toros probados, los marcadores sólo necesitan explicar aproximadamente el 10% de la varianza.

La mejora de la eficacia o el porcentaje de progreso de la prueba de progenie es ciertamente atractiva, pero también nos debemos preguntar si la mejor alternativa podría ser eliminarla por completo. Al au-

mentar la información de marcadores, cada vez va a ser necesario hacer la prueba de progenie a un menor número de toros para mantener o incluso aumentar los beneficios genéticos. Schrooten et al (2004) demostraron que si se pudiera eliminar la prueba de progenie, la enorme reducción en el intervalo entre generaciones podría verse más que compensada por la reducción en la precisión. De hecho, ellos predicen que el 50% de la variación explicada, aumentaría los beneficios genéticos en un 68.3% sin el uso de una prueba de progenie. Otras formas de mejorar la tasa de incremento de respuesta sería aumentar el número de toros jóvenes candidatos, resultantes de una preselección o de un rebaño núcleo, el número de embriones producidos podría aumentar mediante producción de embriones in vitro.

Factores limitantes.

La tecnología genómica ya no parece ser limitada, aunque el nuevo límite puede ser el acceso a fenotipos de calidad para todos los caracteres de importancia económica. Muchos de los estudios de simulación analizan el uso de marcadores que suelen asumir la selección de un solo carácter o la selección sobre un simple índice de mérito total. Sin embargo, muchos estudios de QTL raramente tienen igual poder de detección de los QTL en todos los caracteres. A menudo, se detectan pocos QTL en algunos caracteres que, por supuesto, llevan a la pregunta de si la información faltante para unos cuantos caracteres es importante o no para los productores de leche. Si ciertos caracteres clave carecen de la información de QTL definitiva, algunos productores pueden elegir esperar a la información de las pruebas de progenie antes de comprar semen. Esto puede ser más difícil cuando hay muchos caracteres importantes y existen interacciones complejas entre los caracteres. Por ejemplo, si varios QTL afectaran de forma positiva al complejo de caracteres lecheros, pero los alelos favorables de los QTL también tuvieran efectos colaterales imprevisibles y nocivos sobre los caracteres de conformación o funcionales, es probable que esos toros no tengan éxito en el mercado.

Los estudios de QTL tienden a centrarse en los efectos genéticos aditivos de los QTL, pero raramente tienen suficiente poder estadístico para detectar interacciones entre QTL. Todavía no se sabe cuál es la importancia de esas interacciones, pero serían necesarios experimentos más amplios para detectar incluso una fracción de ellos. Con toda certeza, sería necesario hacer alguna validación del MAS en el mercado para determinar si los efectos complejos de genes tales como interacciones entre genes aún no explicadas, son un factor limitante. La ventaja de la prueba de progenie es el impacto final de la habilidad de transmisión de los toros

que se calcula con relativa precisión mediante un grupo aleatorio de hijas con respecto a las interacciones entre caracteres y entre loci.

El uso prematuro de marcadores también mostró ser un factor limitante a la hora de adoptar esta tecnología ya que los primeros marcadores no solían cumplir la expectativa de la genómica. Como el uso de unos genes candidatos como marcadores en donde las asociaciones con caracteres en un experimento fueron erróneas dado a que éstas fueron fortuitas por mutaciones causativas. Cuando los resultados no se reproducen exactamente, los productores tienden a mirar todos los marcadores de forma pesimista. En contraste, los escaneos de alta densidad de todo el genoma suelen rendir mucho más y sus resultados son más reproducibles porque los marcadores se eligen de acuerdo con el estrecho ligamiento estadístico al verdadero QTL en vez de la concordancia con las ideas preconcebidas sobre la función de los genes.

Claramente, una de las mayores ventajas del MAS está en la posible eliminación de la necesidad de la prueba de progenie. Sin embargo, la reticencia de los productores de leche a comprar semen de un toro sin la acostumbrada prueba de progenie puede limitar el uso de MAS por parte de los Centros de Inseminación Artificial. El semen adquirido sin las pruebas de progenie requiere mucha fe; pero esto se puede dar en otros sectores, tales como la industria porcina, desde hace tiempo y sin el beneficio de tener información de marcadores.

¿La genómica puede cambiar la industria láctea?

En un mercado competitivo, si se puede obtener alguna ventaja de los marcadores, tendría sentido que muchas, o quizás todas las compañías de Inseminación Artificial deberían investigar en MAS para ser más competitivas. De lo contrario, uno o dos competidores que utilizasen el MAS mejoraría paulatinamente las tasas de graduación o ganaría una estructura de costes mejorada dando lugar a dominar la cuota de mercado. Por lo tanto, es probable que la ciencia de la genómica pueda originar un cambio fundamental en la mejora genética del vacuno de leche tanto a través de un aumento en la eficacia como de la eliminación total de la prueba de progenie.

También existe la posibilidad de que los marcadores puedan cambiar la efectividad de la tecnología relacionada, como la ovulación múltiple y la transferencia de embriones (MOET) y la producción de embriones in vitro. Previamente, se ha demostrado que los esquemas núcleo MOET prometían desde el punto de vista de los

beneficios genéticos adicionales, pero los costes que suponían gestionar un rebaño núcleo junto con la información tan limitada sobre los animales jóvenes ha limitado la adopción generalizada. Sin embargo, con la información de marcadores, se pueden seleccionar animales jóvenes con más precisión que antes dando como resultado intervalos generacionales mucho más reducidos y mayores tasas de respuesta genética. Esto es así en los esquemas de los rebaños núcleo MOET porque, previamente, los valores genéticos de los hermanos completos serían idénticos, pero con la información de marcadores se pueden identificar a los mejores hermanos en las primeras etapas de la vida. La información de marcadores también ayudaría a limitar la consanguinidad porque habría menos presión de selección sobre la información del pedigrí y más sobre la información de marcadores de cada individuo. En un estudio pionero (Meuwissen y van Arendonk, 1992) vieron una ventaja de más de 26% en cuanto a ganancias genéticas adicionales cuando los marcadores se empleaban en rebaños núcleo; mientras que el beneficio en la prueba de progenie normal era mucho menor. (figura 4)

Otras tecnologías tales como el sexado del semen podría también entrar en juego ya que el semen sexado alcanzaría una viabilidad económica de transferencia de embriones por el aumento en el número de hembras producidas por dosis. Con una transferencia de embriones más asequible, los rebaños núcleo MOET serían más económicos y se dispondría de más excedentes de hembras para vender. Junto con el MAS, la selección de hembras también podría convertirse en una fuente importante de mejora genética, particularmente si los marcadores explican gran parte de la variación genética. Se podría ganar en eficacia mediante el testaje de los marcadores de los embriones antes de implantarlos (Bredbacka, 2001). Esto podría permitir que una selección considerable tendría lugar sobre embriones de modo que los embriones con perfiles inferiores de marcadores podrían ser desechados antes de su implantación y los costes de receptoras. Esto, de nuevo, aumentaría la efectividad de costes de los rebaños núcleo porque la preselección de embriones permitiría un progreso igual que el realizado con un rebaño núcleo más pequeño. De forma alternativa, esto representa más oportunidades para la preselección antes de que los toros entren en la prueba de progenie y las tasas de respuesta genética predichas llegarían hasta un 31% más rápido que con la prueba de progenie convencional (Schroten et al., 2004)

Figura 4
Efecto relativo de MAS en rebaños núcleo Moet vs. Prueba de progenie (Meuwissen y Van Arendonk, 1992)

Conclusiones

La Genómica ha generado expectativas de un aumento sustancial en la mejora genética para la industria láctea desde principios de los 90. Sin embargo, hasta muy recientemente, las expectativas en gran medida no se ha cumplido. Sin embargo, la inevitable madurez de la tecnología en el genotipado de alta producción, de bajo coste y con mapas de marcadores SNP de alta densidad ha dado lugar a que la industria esté preparada ahora para localizar de forma precisa suficientes QTL que expliquen la mayor parte de la varianza genética aditiva con vistas a la selección. Ahora se están desarrollando los métodos MAS que abarcan al genoma completo que pueden generar los valores genéticos de la genómica total, lo que permite la precisión de predicción del MAS alcanzando el 85% o más. Con esos impulsos tan sustanciosos en la capacidad del MAS, parece que las herramientas genómicas están preparadas para añadir un valor sustancial a la mejora de la genética del vacuno de leche mediante un gran aumento en la eficacia de la prueba de progenie o mediante su eliminación total. Las limitaciones en la prevención de la adopción de esta tecnología reside en la dificultad en la predicción de la complejidad genética que sustenta los caracteres económicos y debido a la posible duda de los productores para aceptar los valores genéticos basados únicamente en la información de los marcadores y del pedigrí. Las combinaciones de las técnicas genómicas con las tecnologías reproductoras tales como esquemas de rebaños núcleo MOET, sexado de semen y manipulación de embriones podrían probar que son la respuesta al desarrollo del próximo modelo para la mejora genética del ganado vacuno de leche.