



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



DETERMINACIÓN DEL NIVEL Y EXTENSIÓN DEL  
DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO EN EL GRUPO DE  
LIGAMIENTO XI ASOCIADO A PESO CORPORAL EN CUATRO  
POBLACIONES DEL SALMÓN DEL ATLÁNTICO.

**PAULINA LÓPEZ LÓPEZ**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento Fomento de la  
Producción Animal.

PROFESOR GUÍA: VÍCTOR MARTÍNEZ MONCADA

SANTIAGO, CHILE  
2013



DETERMINACIÓN DEL NIVEL Y EXTENSIÓN DEL  
DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO EN EL GRUPO DE  
LIGAMIENTO XI ASOCIADO A PESO CORPORAL EN CUATRO  
POBLACIONES DEL SALMÓN DEL ATLÁNTICO.

**PAULINA LÓPEZ LÓPEZ**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento Fomento de la  
Producción Animal.

NOTA FINAL: .....

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA : VÍCTOR MARTÍNEZ MONCADA.....		
PROFESOR CONSEJERO: MÓNICA DE LOS REYES .....		
PROFESOR CONSEJERO: LEONARDO SÁENZ .....		

SANTIAGO, CHILE  
2013

**DETERMINACIÓN DEL NIVEL Y EXTENSIÓN DEL DESEQUILIBRIO DE LIGAMIENTO EN EL GRUPO DE LIGAMIENTO XI ASOCIADO A PESO CORPORAL EN CUATRO POBLACIONES DEL SALMÓN DEL ATLÁNTICO.**

**DETERMINATION OF LEVELS AND EXTENT OF LINKAGE DISEQUILIBRIUM IN LINKAGE GROUP XI ASSOCIATED TO BODY WEIGHT IN FOUR CHILEAN POPULATION OF ATLANTIC SALMON.**

AUTOR: PAULINA FABIOLA LÓPEZ LÓPEZ

LABORATORIO DE INVESTIGACIONES EN BIOTECNOLOGÍA Y GENÓMICA ANIMAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE (FAVET-INBIOGEN). DEPARTAMENTO FOMENTO DE LA PRODUCCIÓN ANIMAL.

FINANCIAMIENTO: FONDECYT 1090632.

## RESUMEN

---

Los programas de selección aplicados en la salmonicultura han considerado diferentes características a seleccionar, siendo la principal el peso corporal por su fácil medición y por ser el determinante en el precio final del producto, obteniendo una alta tasa de respuesta a la selección. El objetivo de este estudio es determinar huellas de selección a nivel molecular a través del nivel y extensión del desequilibrio de ligamiento en el grupo de ligamiento 11 que alberga un loci de carácter cuantitativo para peso corporal. Para ello se consideraron cuatro poblaciones del salmón del Atlántico, tres de las cuales corresponden a poblaciones comerciales que difieren en la intensidad de selección aplicada y una población naturalizada que actúo como control negativo. Los resultados indican que existen altos niveles de desequilibrio de ligamiento en la extensión del cromosoma en estudio, encontrando huellas de selección en las tres poblaciones comerciales en la región donde se determinó la posición del loci de carácter cuantitativo. En el caso de la población naturalizada no se presentó este patrón de selección, siendo coincidentes estos resultados con la historia poblacional de los cuatro grupos en estudios.

**Palabras claves:** Desequilibrio de ligamiento, selección, peso corporal, salmón, loci de carácter cuantitativo y grupo de ligamiento.

## ABSTRACT

---

Breeding programmes considered different traits to select, being the predominant body weight that can be easily measurement and for being the determining factor in the final price of the product, obtaining a large rate of response to selection. The objective of this study is to determine molecular footprints of selection, level and extent of linkage disequilibrium on linkage group 11 that harbors a quantitative trait loci for body weight. For it considered four populations of Atlantic salmon, three of which correspond to commercial populations that differ in the intensity of selection and naturalized population acted as a negative control. The results indicate the high levels of linkage disequilibrium in chromosome into study, indicating footprints to selection in the three commercial populations indicating the region where quantitative trait loci was positioned. Naturalized population did not show this pattern of selection, being these results coincident with the population history of the four study groups.

**Key words:** Disequilibrium linkage, selection, body weight, salmon, quantitative trait loci and linkage group.

## INTRODUCCIÓN.

La salmonicultura en Chile se ha convertido en una potente industria en las últimas dos décadas. El salmón no es una especie nativa, sin embargo la condición climática en el sur del país proporciona una excelente área geográfica para el asentamiento de pisciculturas y centro de cultivos, lo que ha llevado a Chile a ser el segundo productor en el mundo (Bjørndal, 2002).

Los programas de crianza consideran diferentes características a seleccionar tales como peso corporal, rangos de crecimiento, resistencia a enfermedades y características de la canal (Martínez, 2007). El peso corporal es uno de los rasgos preponderantes en los programas de selección debido a la fácil medición en los candidatos y por ser el determinante en el precio final que recibe el productor.

En la acuicultura se utiliza información del pedigree para llevar a cabo una acertada evaluación estadística de los candidatos usando el método de la mejor predicción lineal no sesgada (BLUP). Esta metodología permite maximizar el nivel genético de los animales seleccionados, produciendo un aumento de la consanguinidad promedio de la población seleccionada (Meuwissen *et al*, 1997). Un programa de selección bien diseñado puede mostrar una respuesta sustancial para peso corporal de un 10% a 14% en el salmón del Atlántico (Gjøen y Bentsen, 1997). Se ha determinado que la heredabilidad para peso corporal en *Salmo salar* es moderadamente alta con una estimación de 0,1-0,2, presentando una correlación positiva con características de calidad de la canal, a excepción del contenido de humedad de la carne (Quinton *et al*, 2007).

Por otra parte, diferentes estudios han determinado loci de carácter cuantitativo (QTL) para peso corporal, entre los cuales se ha determinado la presencia de un QTL en el grupo de ligamiento (GL) 11 (Reid *et al*, 2005 y Houston *et al*, 2009) correspondiente al cromosoma Ssa03 (Phillips *et al*, 2009). Este QTL es el responsable de un 11,7% a 12,4% de la variación fenotípica de la característica (Reid *et al*, 2005). Basado en el modelo padre se determinó que el QTL para peso corporal se encuentra en la posición 9 cM en el GL 11 (Houston *et al*, 2009). Este GL además alberga un QTL para el factor de condición (Baranski *et al*, 2010), lo que resulta interesante de analizar por contener loci de características de crecimiento.

El desequilibrio de ligamiento (DL) es una asociación no aleatoria en toda la población de alelos de diferentes loci (Nsengimana *et al*, 2004). La exploración de este parámetro genético entre genes de gran efecto y marcadores neutrales ha sido propuesta para la identificación de

genes relacionados a características productivas (Huttley *et al*, 1999). El DL facilita la asignación de los mapas de asociación y permite extender la resolución de los mapas de ligamiento, permite la comparación entre poblaciones y son útiles para detectar barridos selectivos y otros eventos de interés evolutivo (Khatkar *et al*, 2006).

La selección promueve el DL por medio de la modificación de los patrones de variación genética en la zona cercana al locus seleccionado, es lo que se denomina “Hitchhiking” (Kim y Stephan, 2002). Esto es particularmente importante en aquellos loci que son altamente variables como los microsatélites, ya que a partir de la diversidad alélica y distribución de la heterocigosis es posible inferir la selección (Payseur *et al*, 2002).

En este trabajo se estimará el DL en el grupo de ligamiento 11 en tres poblaciones comerciales y una población naturalizada de *Salmo salar*, con el objeto de determinar las consecuencias a nivel molecular de la selección artificial ejercida por los programas de crías. Además, se evaluará la variabilidad genética en este GL y las diferencias genéticas existentes entre las poblaciones en estudio.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### Poblaciones bajo estudio.

Cuatro poblaciones con distinta historia fueron utilizadas. La población A (PA) ha sido el resultado de una intensa selección artificial, en que los objetivos de cría incorporan una serie de características tales como la tasa de crecimiento, resistencia a enfermedades y características de calidad de la canal obteniendo una alta respuesta a la selección para estos rasgos. De esta población fueron muestreados 64 individuos no relacionados.

La población B (PB) ha sido el resultado de la selección fenotípica a través de varias generaciones, principalmente para la tasa de crecimiento, siendo débil la respuesta a rasgos como resistencia a enfermedades a través de la selección natural bajo las condiciones de explotación. Esta segunda población refleja la realidad de los sistemas de cría chileno. De esta población fueron muestreados 50 individuos no relacionados.

La población C (PC) se mantuvo de forma cerrada, sin un programa de selección formal, de ella se emplearon 48 individuos no relacionados. La población D (PD) ha permanecido en el medio

silvestre por un número indeterminado de generaciones, de la cual fueron muestreados 30 individuos. Esta última población actuó como control negativo por no contar con una presión de selección artificial para la característica en estudio.

#### Extracción de ADN.

El ADN fue extraído del tejido muscular con el kit comercial Dneasy Blood & Tissue (QIAGEN) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se evaluó la integridad del ADN extraído por electroforesis en gel de agarosa al 1% y se cuantificó su concentración en el fluorómetro Qubit™.

#### Selección de marcadores y Genotipado.

Para el genotipado se eligieron marcadores de tipo microsatélite de acuerdo a su posición en el mapa de ligamiento disponible en cGRASP ([www.cgrasp.org](http://www.cgrasp.org)). Los marcadores moleculares, las secuencias de los primarios y el tipo de repetición se presentan en la Tabla 1 y en las Tablas 2 y 3 se muestra el protocolo de PCR empleado. Para la realización de electroforesis capilar se utilizó la técnica de la cola M13 fluoroforada descrita por Schuelke (2000) empleando los fluoróforos 6-FAM, PET, NED y VIC. Los productos de PCR fueron enviados a analizar a un laboratorio externo para realizar la electroforesis capilar.

Para el genotipado de las muestras se empleó un programa de consenso. Con el objeto de establecer los alelos que segregan en cada marcador de forma estandarizada y con ello disminuir los errores de genotipado se empleó el programa Flexibin (Amos, 2007).

#### Análisis de diversidad genética.

Para la determinación de parámetros de diversidad genética dentro y entre poblaciones fueron utilizados FSTAT 2.9.3.2 (Goudet, 2002) y GENEPOP 4.0 (Raymond y Rousset, 1995).

#### Análisis de desequilibrio de ligamiento.

Dos medidas fueron consideradas para este objetivo. Una de ellas es la métrica  $D'$  que fue por primera vez descrito por Hedrick (1987) como una extensión multialélica del coeficiente de Lewontin  $D'_{ij}$  (Lewontin, 1964). El otro estadístico empleado corresponde a Chi-cuadrado estandarizado ( $X^2$ ), que es considerado una métrica preferida para marcadores multialélicos (Zhao *et al*, 2005) dado por la mayor robustez ante alelos o haplotipos con bajas frecuencias que son comunes de encontrar en microsatélites polimórficos.

$D'$  y  $X^2$  se definen como:

$$D' = \sum_i \sum_j P(A_i)P(B_j) | |D_{ij}/D_{ij}^{\max}|$$

$$X^2 = X^2/[2N(n - 1)]$$

Donde  $D_{ij} = P(A_i B_j) - P(A_i) P(B_j)$  mientras que  $P(A_i)$  es la frecuencia del alelo  $i$  en el marcador A,  $P(B_j)$  es la frecuencia del alelo  $j$  en el marcador B y

$$D_{ij}^{\max} = \min[P(A_i)P(B_j), (1-P(A_i))(1-P(B_j))] \text{ cuando } D_{ij} < 0,$$

$$D_{ij}^{\max} = \min[P(A_i)(1-P(B_j)), (1-P(A_i))(P(B_j))] \text{ cuando } D_{ij} > 0$$

$$X^2 = N \sum_i \sum_j (D_{ij}^2 / [(P(A_i)) (P(B_j))])$$

$N$  es el tamaño de la muestra y  $n$  es el número de alelos en el marcador con el menor número de alelos.

Para la determinación de los valores de  $D'$  fue empleada la función LDMAX del programa GOLD (Abecasis y Cookson, 2000), para lo cual fueron considerados los genotipos de los individuos de cada población. Por otra parte, se empleó la función HAPLOXT del programa GOLD para la determinación de los valores de  $X^2$  a partir de los haplotipos que segregan en la población, los cuales se determinaron por el programa ARLEQUIN v. 3.1. (Excoffier *et al*, 2005).

Para la obtención del decaimiento del DL y el factor debido a selección, fue empleado el modelo descrito por Heifetz *et al*, (2005), el cual se basa en la ecuación de Sved (1971) dado que esta última es considerada una herramienta útil para determinar la extensión y la declinación del DL en una población (Heifetz *et al*, 2005) en función de la distancia entre los diferentes marcadores. El modelo se describe como:

$$LD_{ij} = 1/(1+4b_j d_{ij}) + e_{ij}$$

Donde,  $LD_{ij}$  es el DL observado para el par de marcadores  $i$  del conjunto de datos  $j$ ,

$d_{ij}$  = distancia en Morgans del par de marcadores  $i$  en la base de datos  $j$

$b_j$  = describe la declinación de DL por la distancia para el conjunto de datos  $j$

$e_{ij}$  = residuo aleatorio, el cual se emplea para capturar información de DL debido a selección.

Se estimó el decaimiento por la distancia ( $b_j$ ) y los valores del DL debido a selección ( $e_{ij}$ ) por medio de una regresión no lineal de la función previamente descrita, usando el programa InfoStat (Di Rienzo *et al*, 2011).

El grupo de ligamiento 11 fue dividido en tres regiones: la región 1 (R1) que comprende desde los 0 cM a 20 cM, la región 2 (R2) de 20 cM a 46,0 cM y la región 3 (R3) que se extiende desde los 46,0 cM hasta 86, 9 cM (Figura 1). Se evaluaron las diferencias entre regiones para cada población de  $b_j$  y de  $e_{ij}$  por medio de un análisis de varianza (ANDEVA) empleando la prueba de diferencia menos significativa (LDS) de Fisher.

## RESULTADOS

### Diversidad Genética.

El número de alelos ( $A_n$ ) y el contenido de información polimórfica (PIC) por locus en cada población se encuentra en la Tabla 4, en ella se muestra que los once marcadores de tipo microsatélites son polimórficos en las cuatro poblaciones.

La heterocigosidad observada ( $H_o$ ), la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) y el p-value del equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) se muestra en la Tabla 5. La prueba de Hardy-Weinberg permite describir el comportamiento de las frecuencias génicas y genotípicas de una generación a la siguiente en poblaciones ideales (con apareamiento aleatorio, herencia mendeliana, sin selección, mutación y migración), en que se establece que una población está en equilibrio de HW cuando las frecuencias génicas y genotípicas permanecen constantes entre generaciones consecutivas (Hartl y Clark, 1997). De estos resultados se desprende que gran parte de los locus no se encuentran en equilibrio de HW.

Los resultados muestran a la población A con la mayor diversidad genética medida como  $A_n$  (12,45),  $H_o$  (0,478) y PIC (0,7309), mientras la población D presentó la menor diversidad genética con valores de  $A_n = 9,91$ ,  $H_o = 0,422$  y  $PIC = 0,74$ .

Se determinó el coeficiente de endogamia debido a apareamientos no aleatorios dentro de poblaciones ( $F_{is}$ ) cuyos valores por locus se encuentra en la Tabla 6. De estos resultados se desprende un alto grado de endogamia en gran parte de los locus en cada población. La población A se caracterizó por presentar un menor grado de consanguinidad, mientras que la población D presentó un mayor grado de endogamia.

Los valores de diferenciación genética entre poblaciones ( $F_{st}$ ) muestran un bajo grado de diferenciación entre ellas. El menor valor de  $F_{st}$  se observó entre PA y PD ( $F_{st}= 0,028$ ), mientras que los valores más altos se detectaron entre PB y PC ( $F_{st}= 0,067$ ) (Tabla 7).

#### Análisis de desequilibrio de ligamiento usando $D'$ .

En la Figura 2 se graficó la magnitud de  $D'$  en función de la distancia genética en el GL 11 para las cuatro poblaciones en estudio. Se observó un alto nivel de DL a grandes distancias en el GL.

Los valores obtenidos para el decaimiento por la distancia ( $b_j$ ) utilizando  $D'$  fueron  $0,000048 \pm 0,000015$ ,  $0,000035 \pm 0,000015$ ,  $0,00003 \pm 0,000015$ ,  $0,000026 \pm 0,000015$  para las poblaciones A, B, C y D respectivamente, los cuales no muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Con respecto al  $b_j$  de las regiones en cada población, la región 1 presentó los valores más altos en todas las poblaciones, siendo el mayor valor el de la población A (Tabla 8).

Utilizando el estadístico  $D'$  se compararon los niveles de DL debido a selección entre regiones para cada población por medio de un ANDEVA. Los resultados muestran a R1 con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) con respecto a R2 y R3 en las tres poblaciones comerciales (PA, PB y PC), lo cual no fue observado en la población naturalizada (Figura 3).

#### Análisis de desequilibrio de ligamiento usando $X^2$ .

En la Figura 4 se representó la magnitud de  $X^2$  en función de la distancia genética a través del grupo de ligamiento 11 para las cuatro poblaciones. En dicho gráfico se muestra que el DL se mantiene a grandes distancia en toda la extensión del GL.

Los valores obtenidos para  $b_j$  utilizando  $X^2$  fueron  $0,000058 \pm 0,000014$ ,  $0,000033 \pm 0,000014$ ,  $0,000028 \pm 0,000014$ ,  $0,000021 \pm 0,000014$ , para las poblaciones A, B, C y D, respectivamente, los cuales no muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Con respecto al  $b_j$  de las regiones en cada población, la región 1 presentó los valores más altos en todas las poblaciones, siendo el mayor valor el de la población A (Tabla 9).

Utilizando el estadístico  $\chi^2$  se compararon los niveles de DL debido a selección entre regiones para cada población por medio de un ANDEVA. Los resultados muestran que la región 1 presenta diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) con respecto a la región 2 y 3 para las poblaciones A y B, lo cual no fue observado en la población comercial C y población naturalizada (Figura 5).

## DISCUSIÓN

El peso corporal ha sido considerado ampliamente en los programas de selección de cría en diferentes especies productivas, lo que ha llevado a la mejora sustancial de la característica en las poblaciones comerciales actuales. El efecto hitchhiking genera una considerable reducción de la variación genética en los sitios que están siendo fuertemente seleccionados (Kim y Stephan, 2002) y aumenta el DL (Weiner *et al*, 2003), lo cual fue observado en las poblaciones comerciales del salmón del Atlántico chileno analizadas en el presente estudio.

Para estudiar la estructura genética de las cuatro poblaciones fueron empleados los estadísticos  $F_{is}$  y  $F_{st}$  de Wright (1951). Los valores de endogamia en las poblaciones ( $F_{is}$ ) muestran un alto grado de consanguinidad, siendo la población C la que muestra el mayor grado de endogamia para todos los marcadores con un promedio de 0,357. Siendo coincidente este resultado con la historia poblacional de PC que se caracteriza por mantenerse cerrada, generando probablemente cruzamientos entre individuos relacionados. Los valores de diferenciación poblacional ( $F_{st}$ ) entre pares de poblaciones se caracterizan por ser pequeños, lo cual indica la estrecha similitud entre los grupos de salmones chilenos.

La prueba de Hardy-Weinberg muestra a una proporción importante de locus que no se encuentran en equilibrio de HW, siendo esto en parte explicado por el efecto de la selección. Al operar la selección sobre un determinado gen la frecuencia en la descendencia no es la misma que en los padres, ya que la contribución génica a la generación siguiente de padres de distintos genotipos es desigual, de esta manera la selección causa un cambio en la frecuencia génica y, consecuentemente, también de la frecuencia genotípica (Falconer y Mackay, 1996). Esto a su vez impacta en los niveles de heterocigosis observados siendo los valores más bajos de los esperados, lo cual puede ser justificado por el proceso de selección en que variantes neutrales son fijadas junto con los alelos beneficiosos del locus seleccionado reduciendo la variabilidad de loci ligados a este gen (Charlesworth *et al*, 1993).

El desequilibrio de ligamiento puede surgir de la mezcla de poblaciones con diferentes frecuencias génicas o por azar en poblaciones pequeñas, así como también puede producirse y mantenerse mediante selección, que favorece una combinación alélica frente a otra (Falconer y Mackay, 1996), siendo promovido a través del efecto de hitchhiking (Maynard Smith y Haigh, 1974), es por ello que el DL es empleado como una huella de selección. En el presente estudio se emplearon dos estadísticos para determinar la magnitud del DL,  $D'$  y  $X^2$ . Empleando ambas métricas es posible observar valores de DL superiores a 0,5 en toda la extensión del GL sosteniéndose a grandes distancias (Figuras 2 y 4).

El decaimiento del DL por la distancia se determinó en las cuatro poblaciones obteniendo un valor promedio de  $3,49 \times 10^{-5} \pm 1,22 \times 10^{-5}$ . Estos valores indican una alta persistencia del DL sobre grandes distancias del GL, decayendo lentamente. Estudios realizados en otras especies productivas se ha observado que el nivel del DL decae rápidamente a distancias de 2 cM, como en el caso de trucha arcoíris (Rexroad y Vallejos, 2009), vacas (Farnir *et al*, 2000), ovejas (McRae *et al*, 2002) y pollos (Heifetz *et al*, 2005). Nuestros resultados muestran al GL 11 con el menor decaimiento del DL dentro del conjunto de cromosomas estudiados de diferentes especies productivas (Rexroad y Vallejos, 2009; Farnir *et al*, 2000; McRae *et al*, 2002; Heifetz *et al*, 2005).

Con respecto a los valores del decaimiento por la distancia de las regiones en cada población, la región 1 con los mayores valores (Tabla 8 y 9). De acuerdo a lo esperado, se estima un nivel de DL más alto en las zonas aledañas a un gen bajo selección (Weiner *et al*, 2003). Dado que en este estudio cada región abarcó aproximadamente 20 cM se obtiene una mayor variabilidad en los valores de DL, por lo tanto si existe en esta región puntos con mayor DL con respecto al resto de la zona mostrará un mayor coeficiente de decaimiento.

Los resultados más relevantes obtenidos en el presente trabajo y que dejan en manifiesto la diferencia existente entre las regiones del grupo de ligamiento, son los obtenidos a partir del análisis de varianza de los residuos aleatorios que captura información de DL debido a selección (Figuras 3 y 5). Los resultados muestran a R1 con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) respecto a R2 y R3 en las tres poblaciones comerciales concordando con la historia poblacional que se caracteriza por la aplicación de un programa de cría, mientras que la población naturalizada no fue observada esta huella de selección. Estos resultados coinciden con la ubicación del QTL para peso corporal que se encuentra en la posición 9 cM del GL 11 (Houston *et al*, 2009), lo que genera mayores magnitudes del DL en las zonas próximas al QTL producto de la fuerte selección realizada para esta característica.

Los resultados obtenidos por  $X^2$ , son semejantes a los obtenidos por D' para las poblaciones A y B, ya que la región 1 de ambas poblaciones presenta diferencias estadísticamente significativas con respecto al resto del grupo de ligamiento ( $p < 0,05$ ), lo cual no fue observado en las poblaciones C y D. La discrepancia existente entre los resultados de la comparación del DL debido a selección regionales obtenidos a partir de D' y  $X^2$  para la población C, puede ser explicado por la sobrestimación del DL cuando se emplea el coeficiente de Lewontin (Thévenon *et al*, 2007), lo cual repercute en las estimaciones del residuo aleatorio para la población C.

## **CONCLUSIÓN**

A partir de los análisis realizados en el presente estudio es posible inferir que las poblaciones comerciales de *Salmo salar* chilenas presentan huellas de selección en el grupo de ligamiento que alberga un QTL para peso corporal.

## **AGRADECIMIENTOS**

Tesis financiada por el proyecto FONDECYT 1090632. En primer lugar, quiero agradecer a mi madre por todo el apoyo entregado en el desarrollo universitario y personal. También agradecer al Dr. Víctor Martínez por el apoyo otorgado en el desarrollo de esta tesis. Además, agradezco a Ana Jedlicki, que pertenece al equipo de trabajo del laboratorio FAVET-INBIOGEN, por su colaboración en el desarrollo del presente proyecto.

## ANEXOS

Tabla 1. Marcadores moleculares con secuencia de los partidores *sentido* (F) y *anti-sentido* (R) del grupo de ligamiento 11.

Marcador	Secuencia partidor <i>sentido/anti-sentido</i>	Tipo de repetición
Ssa0649BSFU	F: GCAATGCAGTTCAATTTACA R: AGAGGCTCACAACAGAACAT	Dinucleótido
Ssa1141BSFU	F: ACCAAGGACTATGTGACCTG R: GACAAGCAAGCCCATATAAC	Dinucleótido
Ssa0343BSFU	F: TAAGTTTAGCAGCTTTGCCT R: TTTTGAGTGGTGTGTTGTGT	Dinucleótido
Ssa0017BSFU	F: CGCAACAGGCTTAGTTAGAT R: CAACATTCAGTTCCTTCAT	Dinucleótido
Ssa0670BSFU	F: AGTGTTAATTTTGGGGGATT R: GCCTCTGTTTCTTTTGATTG	Dinucleótido
SsaD144	F: TTGTGAAGGGGCTGACTAAC R: TCAATTGTTGGGTGCACATAG	Tetranucleótido
Ssa0516BSFU	F: GGTCTGTGTGAGTCAGTCAA R: AGCAAAACATGAGCAAAGAT	Dinucleótido
Ssa0936BSFU	F: ATCTCGATACTTAGGTGCCA R: TTTTATCATGGGTCTCTCGT	Trinucleótido
Sal6UoG	F: ATGGAGGCTGGAGAGACAGA R: GTGCGATGCGTCACTCTTAC	Dinucleótido
Ssa0809BSFU	F: TCAAAAAGACAACACAATGC R: TTGTACAAATTTACCCCGTC	Tetranucleótido
Ssa0201BSFU	F: TCTGCAGTCACAAACAGAAG R: GGAGATAACACCAGACAGGA	Dinucleótido

\* A los partidores *sentido* se les agregó la secuencia de la cola M13 (CACGACGTTGTAACGAC) en el extremo 5'.

Tabla 2. Reactivos usados en reacción de PCR con su correspondiente concentración bajo un volumen total de 7  $\mu$ l.

Reactivo	Concentración
ADN	1,5 ng/ $\mu$ l
Partidor sentido	0,6 $\mu$ M
Partidor antisentido	1,6 $\mu$ M
Cola M13 fluoroforada	1,6 $\mu$ M
dNTP*	200 $\mu$ M
MgCl <sub>2</sub>	2 mM
BSA	0,5 $\mu$ g/ml
Buffer reacción PCR	1X
Taq ADNpolimerasa (Qiagen)	0,52 UI

Tabla 3. Programa del termociclador usado en las reacciones de PCR.

Temperatura	Tiempo	Ciclos
95 °C	5'	1
95°C	30"	21
60°C (-0,5°C/ciclo)	30"	
72°C	30"	
95°C	30"	18
53°C	30"	
72°C	30"	
72°C	10'	1

Tabla 4. Número de alelos (An) y el contenido de información polimórfica (PIC) por locus en cada población.

Locus	Población A		Población B		Población C		Población D	
	An	PIC	An	PIC	An	PIC	An	PIC
Ssa0649BSFU	11	0,699	10	0,757	11	0,726	11	0,753
Ssa1141BSFU	9	0,779	13	0,767	12	0,645	9	0,785
Ssa0343BSFU	9	0,735	10	0,698	13	0,764	7	0,711
Ssa0017BSFU	14	0,839	15	0,852	21	0,82	10	0,824
SSa0670BSFU	14	0,584	10	0,677	12	0,647	8	0,753
SsaD144	20	0,862	26	0,871	21	0,85	16	0,856
Ssa0516BSFU	24	0,891	23	0,918	20	0,854	17	0,853
Ssa0936BSFU	11	0,815	11	0,707	8	0,62	9	0,717
Sal6UoG	8	0,571	10	0,769	7	0,553	6	0,669
Ssa0809BSFU	7	0,569	9	0,699	9	0,702	7	0,504
Ssa0201BSF	10	0,696	11	0,687	9	0,69	9	0,72
<b>Promedio</b>	12,45	0,73	13,45	0,76	13,00	0,72	9,91	0,74

Tabla 5. Heterocigosidad observada (Ho), heterocigosidad esperada (He) y el p-value de la prueba de Hardy-Weinberg por población.

Locus	Población A			Población B			Población C			Población D		
	Ho	He	p-value									
Ssa0649BSFU	0,41	0,74	0,0000	0,69	0,80	0,0014	0,42	0,76	0,1838	0,33	0,79	0,0000
Ssa1141BSFU	0,52	0,81	0,0000	0,52	0,80	0,0229	0,27	0,70	0,0000	0,50	0,82	0,0000
Ssa0343BSFU	0,63	0,77	0,0249	0,67	0,74	0,0336	0,54	0,80	0,5042	0,53	0,76	0,0879
Ssa0017BSFU	0,33	0,86	0,0000	0,38	0,87	0,0000	0,40	0,85	0,0000	0,47	0,86	0,0000
SSa0670BSFU	0,36	0,61	0,0029	0,25	0,71	0,0063	0,33	0,69	0,0000	0,30	0,79	0,0000
SsaD144	0,55	0,88	0,0000	0,46	0,89	0,0000	0,46	0,87	0,0000	0,37	0,88	0,0000
Ssa0516BSFU	0,56	0,91	0,0000	0,71	0,93	0,0000	0,56	0,87	0,0000	0,50	0,88	0,0055
Ssa0936BSFU	0,55	0,84	0,0000	0,25	0,75	0,0001	0,42	0,67	0,0000	0,47	0,76	0,0000
Sal6UoG	0,39	0,63	0,0000	0,35	0,81	0,7311	0,52	0,63	0,0000	0,47	0,72	0,0003
Ssa0809BSFU	0,38	0,61	0,4095	0,13	0,74	0,0010	0,33	0,75	0,0000	0,28	0,56	0,1000
Ssa0201BSF	0,61	0,74	0,4569	0,52	0,74	0,3713	0,63	0,74	0,0504	0,43	0,77	0,2112
<b>Promedio</b>	0,48	0,76		0,45	0,80		0,44	0,76		0,42	0,78	

Tabla 6. Valores de endogamia (Fis) por locus en cada población.

<b>Locus</b>	<b>Población A</b>	<b>Población B</b>	<b>Población C</b>	<b>Población D</b>
Ssa0649BSFU	0,465	0,378	0,064	0,603
Ssa1141BSFU	0,257	0,292	0,115	0,332
Ssa0343BSFU	0,086	0,207	-0,009	0,212
Ssa0017BSFU	0,584	0,618	0,625	0,418
SSa0670BSFU	0,391	0,431	0,662	0,619
SsaD144	0,223	0,409	0,484	0,493
Ssa0516BSFU	0,266	0,262	0,144	0,241
Ssa0936BSFU	0,336	0,397	0,479	0,376
Sal6UoG	0,254	0,052	0,421	0,094
Ssa0809BSFU	0,07	0,333	0,755	-0,097
Ssa0201BSF	-0,008	0,01	0,237	0,229
<b>Todo</b>	<b>0,273</b>	<b>0,314</b>	<b>0,357</b>	<b>0,348</b>

Tabla 7. Valores de diferenciación poblacional (Fst) entre pares poblaciones.

<b>Población</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>A</b>	0,037	0,044	0,028
<b>B</b>		0,067	0,038
<b>C</b>			0,057
<b>D</b>			

Tabla 8. Valores de declinación de LD con la distancia (bj) por población para cada región usando D' .

<b>Población</b>	<b>Región 1</b>	<b>Región 2</b>	<b>Región 3</b>
<b>A</b>	1,10E-04	2,00E-05	1,30E-05
<b>B</b>	7,40E-05	1,90E-05	1,20E-05
<b>C</b>	6,70E-05	1,60E-05	7,90E-06
<b>D</b>	5,70E-05	1,40E-05	6,90E-06

Tabla 9. Valores de declinación de LD con la distancia(bj) por la población para cada región usando  $X^2$

<b>Población</b>	<b>Región 1</b>	<b>Región 2</b>	<b>Región 3</b>
<b>A</b>	1,40E-04	2,10E-05	1,20E-05
<b>B</b>	6,20E-05	1,40E-05	8,20E-06
<b>C</b>	7,90E-05	1,50E-05	6,40E-06
<b>D</b>	4,60E-05	1,20E-05	5,80E-06

Figura 1. Grupo de ligamiento 11 con los marcadores moleculares y su correspondiente posición en las regiones R1 (rojo), R2 (verde) y R3 (amarillo).

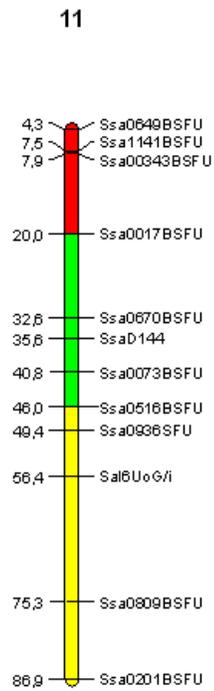


Figura 2. Extensión de la magnitud de  $D'$  a través del grupo de ligamiento 11 en las cuatro poblaciones en estudio.

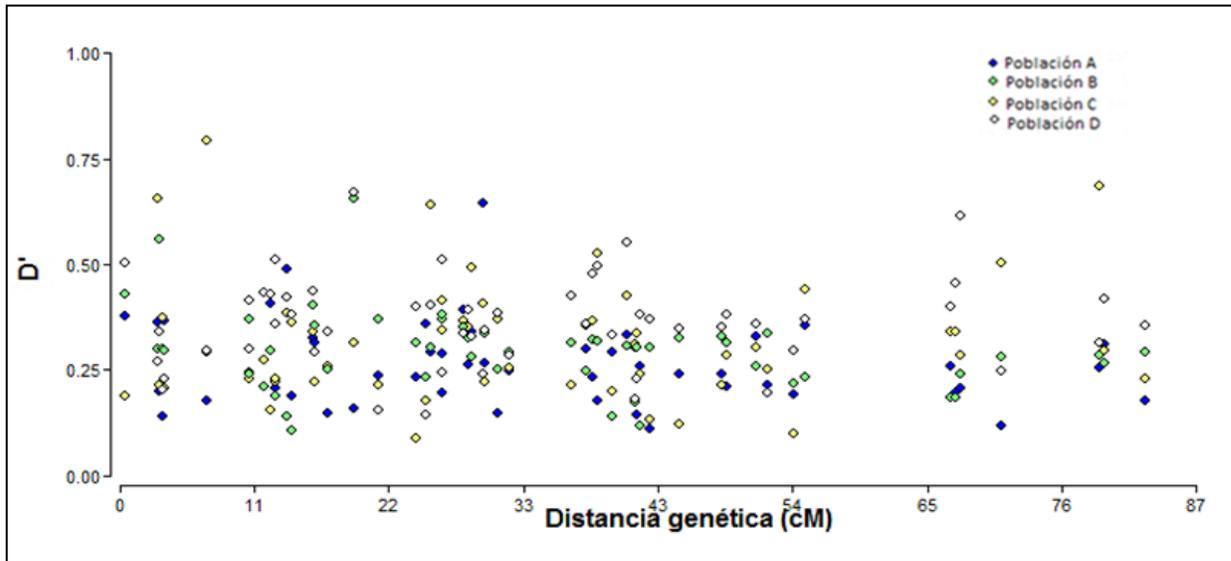


Figura 3. Análisis de varianza para los residuos aleatorios obtenidos por D' para las poblaciones A (a), B (b), C (c) y D (d). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

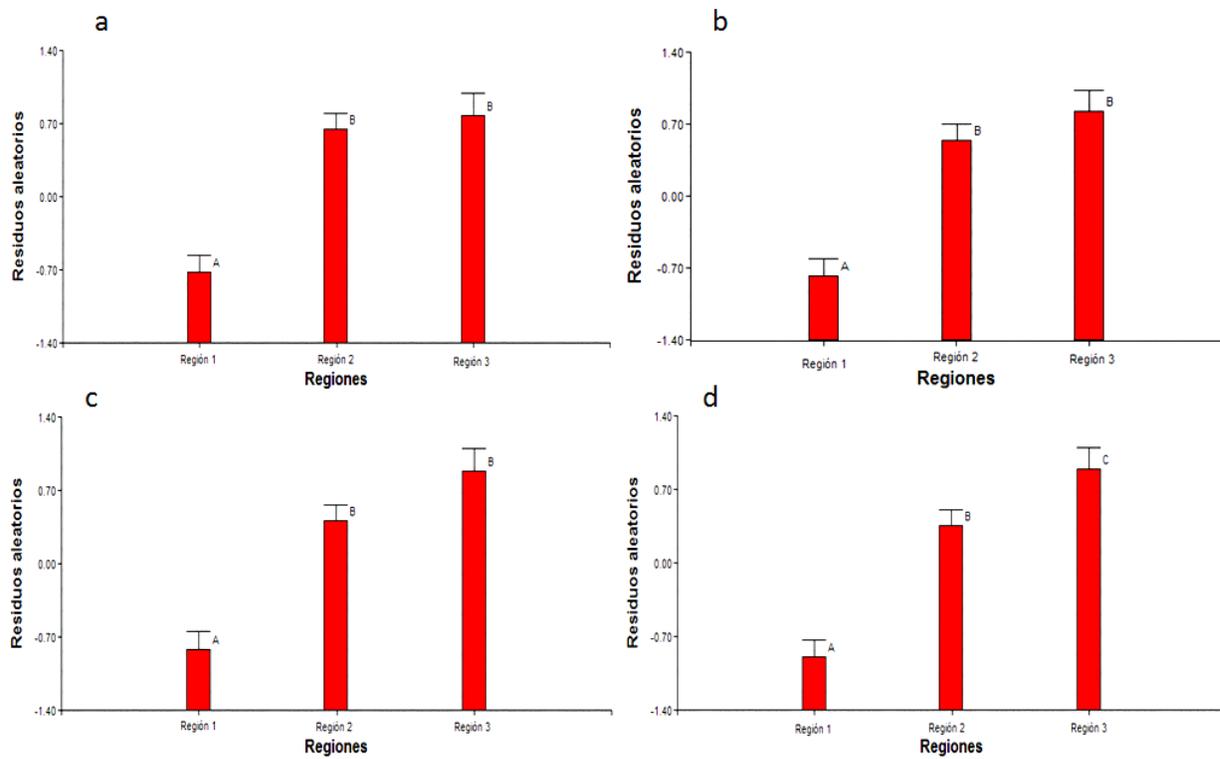


Figura 4. Extensión de la magnitud de  $\chi^2$  a través del grupo de ligamiento 11 en las cuatro poblaciones en estudio.

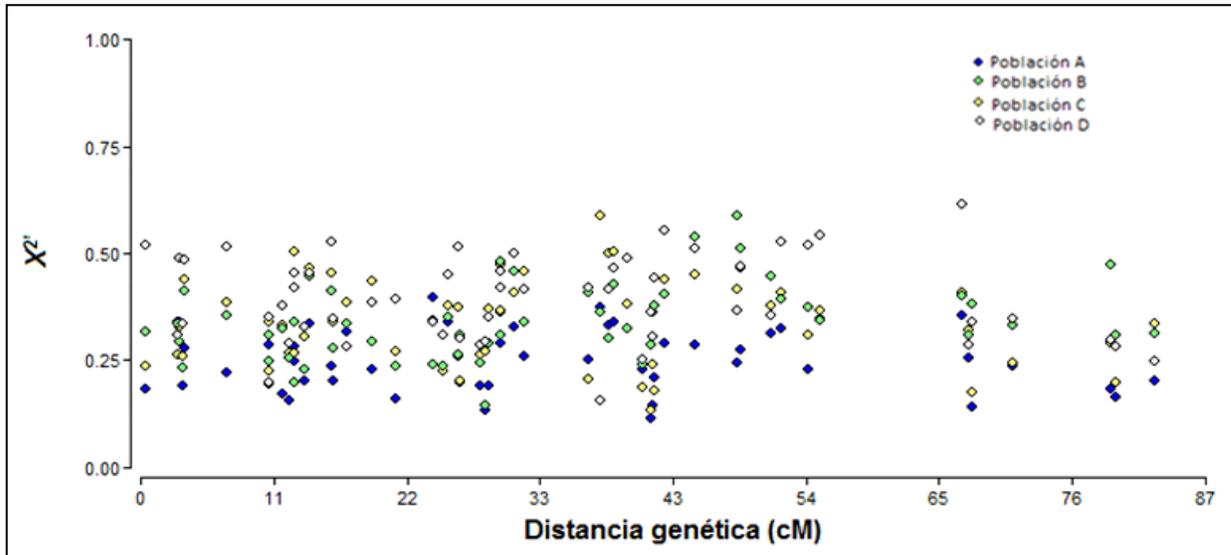
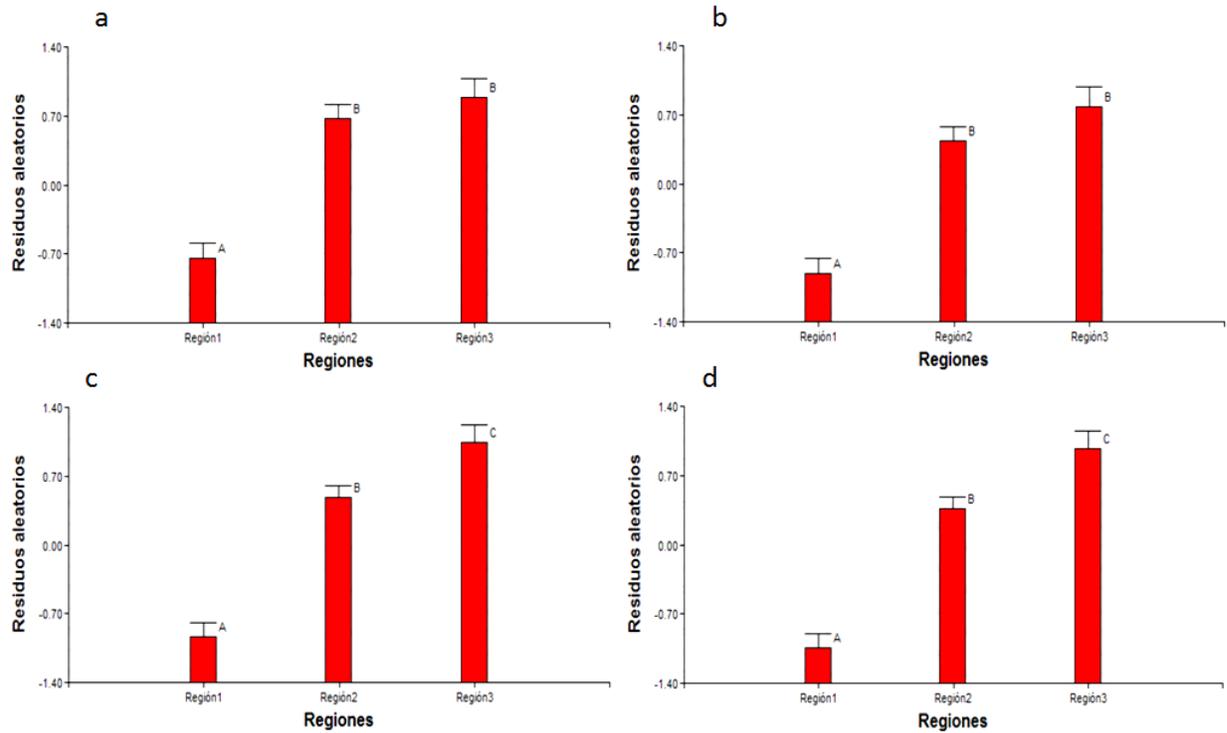


Figura 5. Análisis de varianza para los residuos aleatorios obtenidos por  $\chi^2$  para las poblaciones A (a), B (b), C (c) y D (d). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



## REFERENCIAS

1. ABECASIS, G; COOKSON, W. 2000. Gold Graphical overview of linkage disequilibrium Bioinformatics. 16:182-183
2. AMOS B. 2007. A program to automate the Binning of Microsatellite allele. Mol Ecol. Note 7: 10-14.
3. BARANSKI M; MOEN T; INGEVÅGE D. 2010. Mapping of quantitative trait loci for flesh color and growth traits in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Genetic Selection Evolution. 42:17.
4. BJØRNDAL, T. 2002. The competitiveness of the Chilean salmon aquaculture industry.. Aquaculture Economics & Management 6: 97-116
5. CHARLESWORTH, B; MORGAN, M.T.; CHARLESWORTH, D. 1993. The effect of deleterious mutations on neutral molecular variation. Genetics. 134: 1289–1303.
6. CONSORTIUM FOR GENOMICS RESEARCH ON ALL SALMONIDS PROYECT. <[www.cgrasp.org](http://www.cgrasp.org)>
7. DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L; TABLADA, M; ROBLEDO, C.W. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
8. EXCOFFIER, L; LAVAL, G; SCHNEIDER S. 2005 Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online. 1:47-50.
9. FALCONER, D.S; MACKAY, TFC. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. 4<sup>a</sup> edition. Editorial Addison Wesley Longman Limited, Harlow, England.
10. FARNIR, F; COPPIETERS, W; ARRANZ, J.J.; BERZI, P; CAMBISANO, N; GRISART, B; KARIM, L; MARCQ, F; MOREAU, L; MNI, M; NEZER, C; SIMON, P; VANMANSHOVEN, P; WAGENAAR, D; GEORGES, M. 2000. Extensive genome-wide linkage disequilibrium in cattle. Genome Res. 10:220-227.

11. GJØEN, H; BENTSEN, H. 1997. Past present and future of genetic improvement in salmon aquaculture. *ICES J. Marine Sci.* 54: 1009-1014.
12. GOUDET, J. 2002. FSTAT 2.9.3.2. Institute of Ecology Biology Building, UNIL, CH-1015 Laussane Switzerland.
13. HARTL, D.L.; CLARK A.G. 1997. *Principles of Population Genetics*, 3rd ed. Sunderland, MA: Sinauer.
14. HEDRICK, P.W. 1987. Gametic disequilibrium measures: proceed with caution. *Genetics*. 117: 331-341.
15. HEIFETZ; E; FULTON, J.E., O'SULLIVAN, N; ZHAO, H; DEKKERS, J.C.; SOLLER, M. 2005. Extent and consistency across generations of linkage disequilibrium in commercial layer chicken breeding populations. *Genetics*. 171:1173-118.
16. HOUSTON, R.D.; BISHOP, S.C.; HAMILTON, A; GUY, D.R.; TINCH, A.E.; TAGGART, J.B.; DERAYAT, A; MCANDREW, B.J.; HALEY, C.S. 2009. Detection of QTL affecting harvest traits in a commercial Atlantic salmon population. *Animal Genetics*. 40: 753-755.
17. HUTTLEY, G.A.; SMITH, M.W.; CARRINGTON, M; O'BREIN, S.J. 1999. A scan for linkage disequilibrium across the human genome. *Genetics*. 152: 1711-1722.
18. KHATKAR, M; COLLINS A; CAVANAGH, J, HAWKEN R; HOBBS, M; ZENGER, K; BARRIS, W; MCCLINTOCK; A, THOMSON, P; NICHOLAS, F; RAADSMA, H. 2006. A First-Generation Metric Linkage Disequilibrium Map of Bovine Chromosome 6. *Genetics*. 174: 79-85.
19. KIM, Y; STEPHAN, W. 2002. Detecting a local signature of genetic hitchhiking along recombination chromosome. *Genetics*. 160:765-77.
20. LEWONTIN, R. C. 1964. The interaction of selection and linkage. I. General considerations: heterotic models. *Genetics*. 49: 49-67.

21. MARTÍNEZ V. 2007. Marker-assisted selection in fish and shellfish breeding schemes. En Marker – assisted selection. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Chapter 17: 330-353.
22. MAYNARD SMITH, J; HAIGH, J. 1974. The hitchhiking effect of a favourable gene. Genet Res. 23: 23–35.
23. MCRAE A.F.; MCEWAN, J.C.; DODDS, K.G; WILSON, T; CRAWFORD, A.M.; SLATE, J. 2002. Linkage disequilibrium in domestic sheep. Genetics.160:1113-1122.
24. MEUWISSEN, T.H.E. 1997. Maximizing the response of selection with predefined rate of inbreeding. Journal animal. Sciences.75.
25. NSENGIMANA, J; BARET, P; HALEY, C.S.; VISSCHER, P.M. 2004. Linkage disequilibrium in the Domesticated Pig. Genetics. 166, 1395-1404.
26. PAYSEUR, B. A.; CUTTER A.D.; NACHMAN, M.W. 2002. Searching for evidence of positive selection in the human genome using patterns of microsatellite variability. MolBiolE. 19: 1143-1153.
27. PHILLIPS, R; KEATLEY, K; MORASCH, M; VENTURA, A; LUBIENIECKI, K; KOOP, B; DANZMANN, R; DAVIDSON, W. 2009. Assignment of Atlantic salmon (*Salmo salar*) linkage groups to specific chromosomes: Conservation of large syntenic blocks corresponding to whole chromosome arms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). BMC Genetics. 10:46.
28. QUINTON, CH. D.; MCMILLAN, T.L; GLEBE, B.D. 2007. Development of an Atlantic salmon (*Salmo salar*) genetic improvement program: Genetic parameters of harvest body weight and carcass quality traits estimated with animal models. Aquaculture. 247: 211-217.
29. RAYMOND, M; ROUSSET, F. 1995. GENEPOP. Version 1.2: population genetics software for exact tests and ecumenicism. Heredity. 86: 248-249.
30. REID, D; SZANTO, A; GLEBE, B; DANZMANN, R; FERGUNSON, M. 2005. QTL for body weight and condition factor in Atlantic salmon (*Salmo salar*): comparative analysis

with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Arctic charr (*Salvelinus alpinus*).  
Heredity. 94:166-172.

31. REXROAD, C; VALLEJO, R. 2009. Estimates of linkage disequilibrium and effective population size in rainbow trout. BMC Genetics. 10:83.
32. SCHUELKE, M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. Nature. 18: 233-234.
33. SVED, J.A. 1971. Linkage disequilibrium and homozygosity of chromosome segments in finite populations. Theor. Pop. Bio. 2:125-141.
34. THÉVENON, S; DAYO, G; SYLLA, S; SIDIBE, D; BERTHIER, H; LEGROS, D; EGGEN, A; GAUTIER, M. 2007. The extent of linkage disequilibrium in a large cattle population of western Africa and its consequences for association studies. Animal Genetics. 38: 277-286.
35. WEINER, P; BURTON, D; AJMONE-MARSAN, P; DUNNER, S; MOMMENS, G; NIJMAN, I. J; RODELLAR, C; VALENTINI, A; WILLIAMS, J. L. 2003. Signatures of selection? Patterns of microsatellite diversity on a chromosome containing a selected locus. Heredity. 90: 350-358.
36. WRIGHT, S. 1951. The genetical structure of populations. Annals of Eugenics. 15: 323-354.
37. ZHAO, H; NETTLETON, M; SOLLER, J. Dekkers. 2005. Linkage disequilibrium measures between markers as predictors of linkage disequilibrium between markers and QTL. Genet Res. 86: 77-87.