

Una nota sobre WinLoki: una interfaz de usuario para Loki

S. Iglesias*, J.J. Arranz**, I. Álvarez*, I. Fernández*, L.J. Royo*, F. Goyache*

*Área de Genética y reproducción Animal. SERIDA-Somió, C/ Camino de los Claveles 604, 33203-Gijón (Asturias); e-mail: samuel_ig@yahoo.es

**Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071-León.

Resumen

WinLoki es una interfaz gráfica en entorno Microsoft Windows® para el programa Loki, originalmente desarrollado por Simon Heath bajo licencia libre. Este programa utiliza metodologías bayesianas para localización de QTL (Quantitative Trait Loci) estimando su posición, efectos y número. WinLoki hereda todas las características de Loki e incorpora otras utilidades enfocadas a facilitar su uso en entorno Microsoft Windows® con el objetivo de ayudar a los investigadores que no dispongan de amplios conocimientos informáticos o de programación y estén acostumbrados a utilizar Windows como sistema operativo. El código fuente del programa WinLoki, los archivos ejecutables y las guías de usuario en versiones española e inglesa, se encuentran disponibles y para libre acceso en la página de Internet <http://winloki.sourceforge.net/>. Como ejemplo del funcionamiento de WinLoki se analizó un pedigrí de medio hermanas de padre, de ganado Frisón Español para los caracteres Colocación de Pezones Anteriores y Colocación de Pezones Posteriores en el cromosoma 6 bovino.

Palabras clave: QTL, Análisis bayesiano, Interfaz, Cromosoma 6 bovino

Summary

A note on WinLoki: a user's interface for Loki

WinLoki is a graphical interface under Microsoft Windows® for the Simon Heath's program Loki. This program uses Bayesian methodologies to carry out QTL (Quantitative Trait Loci) mapping analyses giving estimates of the position, effect and number of QTLs involved. WinLoki shares with Loki its nice characteristics and has some useful utilities in a Windows® environment. The aim of WinLoki is to help researchers to the use of Loki without needing significant informatics background. The source code, executable files and user's guides (in Spanish and English versions) are freely available at <http://winloki.sourceforge.net/>. The performance of WinLoki is illustrated via the analysis of a half-daughter pedigree of Spanish Friesian cattle on bovine chromosome 6 for the traits Fore Teat Placement and Rear Teat Placement.

Key words: QTL, Bayesian analysis, Interface, Bovine chromosome 6

Introducción

Desde el final de la década de los 80 y con la generalización del uso de marcadores moleculares polimórficos de tipo microsatélite la detección de Quantitative Trait Loci (QTL) se

ha convertido en una actividad de importancia en la mejora ganadera (Arranz, 2000). Las metodologías estadísticas para detección de QTL se han basado hasta hace poco en mínimos cuadrados y máxima verosimilitud (Weller, 2001), en parte porque

podían aplicarse mediante programas estadísticos de uso general como SAS® (SAS Institute Inc, Cary, NC). A pesar de su mayor flexibilidad, el uso de metodologías Bayesianas para detección de QTL está menos generalizado ya que el número de programas de libre disposición que realizan este tipo de análisis es limitado (Heath, 2002; Wang et al., 2005). Uno de estos programas es Loki (Heath, 2002), que es una herramienta completa de uso creciente (de Koning et al., 2003; Schnabel et al., 2005; Szyda et al., 2005). Loki tiene como ventaja añadida su desarrollo bajo una licencia libre (BSD modificada), permitiendo la modificación de su código para adecuarlo a las necesidades específicas de los usuarios. Sin embargo, Loki no dispone de una interfaz de usuario que ayude a realizar las complejas operaciones de preparación de datos y ejecución del programa, lo que limita su utilización por investigadores con escasos conocimientos de informática. El objetivo de esta nota es describir un interfaz de usuario (denominada WinLoki v0.1 Beta) desarrollada para Loki en entorno Microsoft Windows® y puesta a libre disposición de la comunidad investigadora para facilitar la utilización de Loki.

Materiales y métodos

Breve descripción de Loki

Loki (Heath, 2002) es una serie de programas escritos en lenguaje C que aplican los métodos descritos por Heath (1997) para análisis de segregación y ligamiento de caracteres cuantitativos mediante la utilización de técnicas de Monte Carlo basadas en cadenas de Markov (MCMC). Loki no precisa que se le especifiquen *a priori* el modelo de penetrancia ni el número de QTL que afectan al carácter analizado. Loki no ofrece resultados en forma de "LOD scores" como

los programas tradicionales de análisis de QTL sino que estima la probabilidad posterior de que, al menos, un QTL que afecte al carácter analizado se encuentre en una región cromosómica dada. Otra posibilidad de utilización de Loki es la estimación de las probabilidades de identidad por descendencia (IBD) para todos los animales incluidos en el pedigrí analizado. Aunque Loki no utiliza estos valores IBD en las versiones actuales, esta capacidad de Loki se puede utilizar para obtener matrices de parentesco para su uso en otros programas (Visscher et al., 1999).

Loki incluye dos programas fundamentales: prep.exe y loki.exe que, respectivamente, sirven para configurar los datos de entrada y realizar los análisis MCMC. Asimismo, incluye un reducido número de pequeños programas de utilidad para analizar la salida de Loki.

WinLoki

WinLoki es una interfaz gráfica para el programa Loki (Heath, 2002; disponible en la dirección de Internet <http://loki.homeunix.net/>) desarrollada para la utilización de ese programa en el entorno operativo Microsoft Windows 9x/2000/XP® lo que no resulta posible con el programa original. WinLoki está disponible para su descarga y utilización libres en la dirección de Internet <http://winloki.sourceforge.net/>. WinLoki hereda todas las características de Loki, (excepto la inclusión por medio de la interfaz de los campos y comandos para la estimación de las probabilidades IBD) e incorpora otras utilidades enfocadas a facilitar su uso en entornos Microsoft Windows®, como son:

- Interfaz sencilla y fácil de utilizar.
- Instalación sencilla

- Entorno sencillo para la creación y edición de los ficheros de configuración y de parámetros para la ejecución de Loki.
- Posibilidad de editar los ficheros de configuración de los datos y de los parámetros de ejecución de Loki con el editor de texto que el usuario prefiera (Microsoft WordPad® por defecto).
- Crear una imagen con la gráfica del resultado del análisis en formato gif.

El proceso de instalación de Loki se ha simplificado al máximo. El propio programa guía al usuario en la instalación y, durante la misma, se instalan, además de WinLoki los programas Loki, GnuPlot y distintas librerías necesarias para su correcto funcionamiento. Para poder ejecutar los pequeños programas necesarios para analizar la salida de Loki y para crear una imagen de salida en formato .gif, se debe instalar el programa Perl (disponible en la página <http://winloki.sourceforge.net>).

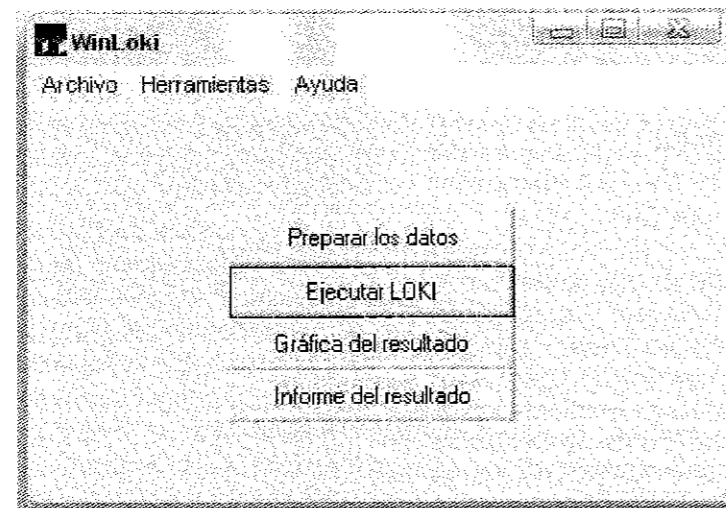


Figura 1. Pantalla principal de WinLoki.
Figure 1. Main screen of WinLoki.

La ejecución del programa se inicia a través de una pantalla principal (figura 1) que incluye tres opciones en el menú superior: *Archivo*, para crear y editar los ficheros necesarios para la ejecución de Loki; *Herramientas*, para seleccionar un editor de texto, ver la imagen .gif con el visor de imágenes por defecto del sistema operativo y configurar la ruta de los programas necesarios por Loki; y *Ayuda*, que proporciona información suplementaria sobre el programa y el autor. En la parte central de la pantalla principal aparecen cuatro botones: *Preparar los datos*, que sirve para indicar a Loki, el formato de los datos de entrada y prepararlos para su uso, abriendo una ventana MSDOS en segundo plano, que ejecuta el programa prep.exe; *Ejecutar Loki*, que abre una ventana en segundo plano que ejecuta loki.exe; *Gráfica del resultado* que permite crear una imagen (en formato gif) que resume los resultados obtenidos por Loki; y *Informe del Resultado*, que permite leer la salida de WinLoki como una tabla.

Los ficheros de configuración pueden crearse desde el menú Archivo o editarse uno previamente creado mediante la opción "Archivo ->Abrir fichero de configuración". Los campos de Loki se pueden añadir desde la opción del menú "Añadir campos". Por otra parte, el usuario puede crear y editar el fichero de parámetros necesario para la ejecución de Loki mediante la opción del menú "Archivo->Crear fichero de parámetros" o, en su caso, "Archivo -->Abrir fichero de configuración" para, posteriormente, añadir éstos desde la opción del menú "Añadir campos" (figura 2).

Tanto los comandos como los campos previstos en WinLoki siguen la estructura de Loki, resultando recomendable la lectura de la ayuda del programa (disponible en http://loki.homeunix.net/loki_doc/) aunque WinLoki proporciona una información básica pulsando sobre el menú de Ayuda.

Nótese que siempre existe la posibilidad de editar "a mano" el fichero de configuración si se quiere incluir algún campo (DO WHILE, Environment Variables o IBD Sharing analyses) o comando (ESTIMATE IBD) de Loki no incluido en WinLoki.

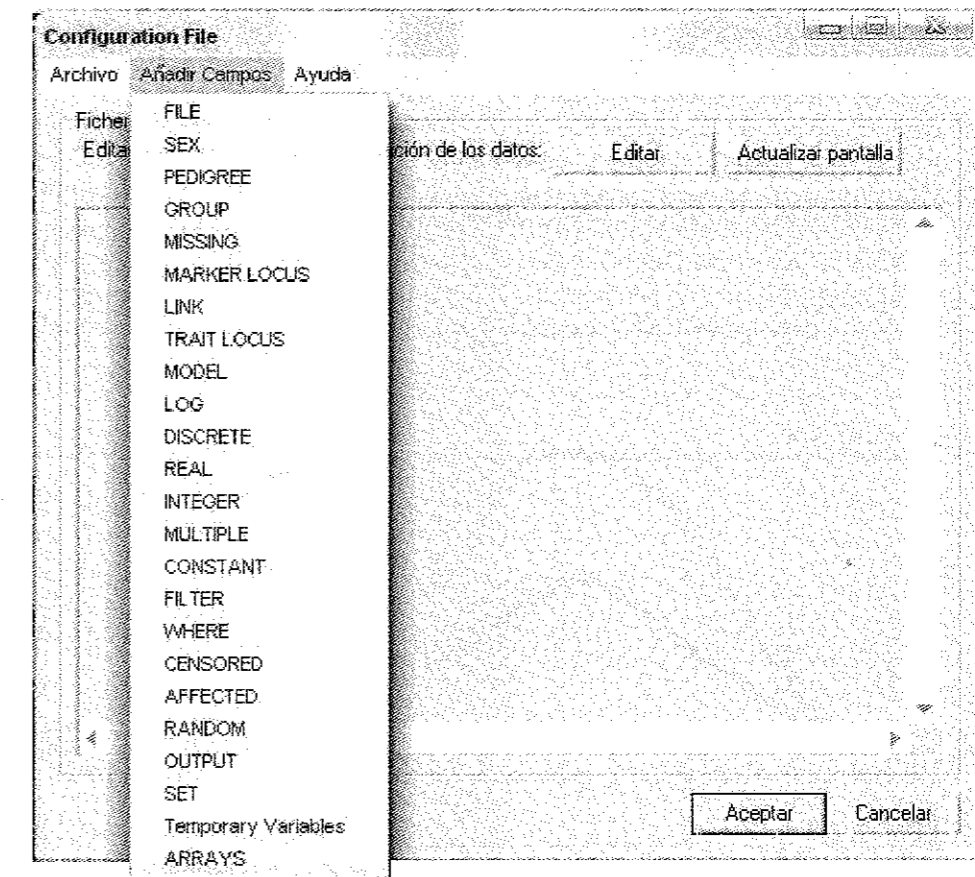


Figura 2. Pantalla de creación y edición del fichero de configuración.
Figure 2. Screen of creation and edition of the configuration file.

Ejemplo

Como ejemplo del funcionamiento de WinLoki se ha analizado un pedigrí de medio hermanas de padre, de ganado Frisón Español, controlado por la cooperativa Asturiana de Control Lechero (ASCOL) ya presentado previamente para caracteres de producción de leche (Álvarez et al., 2003). El pedigrí lo integran familias de hijas de 7 sementales frisones, con 164-189 hijas por semental y se ha genotipado con 10 marcadores microsatélites localizados en el cromosoma 6 bovino, amplificados en 3 reacciones diferentes: multiplex FAM (BM4311, BM415, BM4528); multiplex TET (BM143, BM1329, ILSTS93, CSN3) y multiplex HEX (TGLA37, BM4621, ILSTS97). La

amplificación por PCR y el genotipado se realizó según lo descrito por Álvarez et al. (2003). Como valores fenotípicos se han empleado los méritos genéticos de los animales para los caracteres de tipo Colocación de Pezones Anteriores (CPA) y Colocación e Pezones Posteriores (CPP) obtenidos mediante las evaluaciones genéticas oficiales de CONAFE. Sobre la información aportada por los 10 microsatélites considerados, se elabora un mapa de ligamiento adaptado a la población estudiada utilizando el programa CRIMAP (Lander y Green, 1987), que aplica la función de Kosambi para calcular, a partir de las frecuencias de recombinación, la distancia en centiMorgan (cM) existente entre los marcadores.

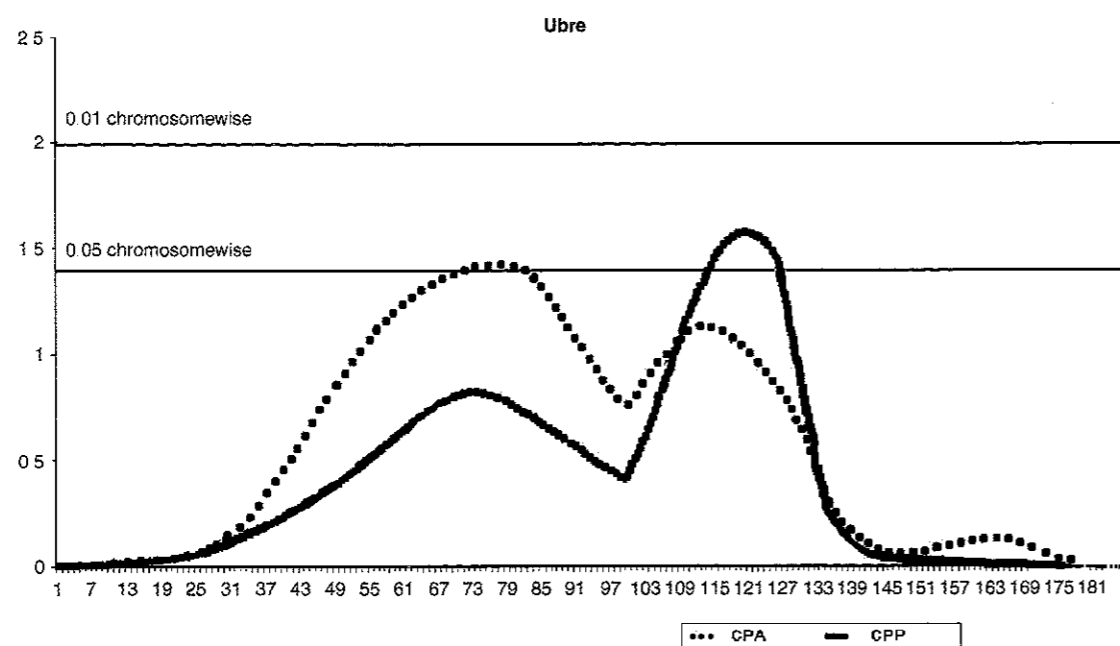


Figura 3 Análisis bayesiano para localización de QTLs en el cromosoma 6 bovino para los caracteres Colocación de Pezones Anteriores (CPA) y Colocación de Pezones Posteriores (CPP).

Figure 3 Bayesian analysis performed for QTL mapping on bovine chromosome 6 for the traits Fore Teat Placement (CPA) and Rear Teat Placement (CPP).

Resultados y discusión

Se realizó un análisis preliminar de los caracteres CPA y CPP mediante la metodología de análisis de regresión descrita por Knott et al. (1996) en cada cM del cromosoma 6 bovino, en la forma descrita por Díez-Tascón et al. (2001). Los resultados obtenidos se muestran en la figura 3. Parece detectarse un QTL para CPA ($P = 0,037$) entre los 77 y 78 cM y otro para CPP ($P = 0,029$) en posición 129 cM. Sin embargo, la imagen obtenida permitiría pensar en que para cada uno de los caracteres analizados pudiera existir otro QTL al umbral, sugerente, de 10%. Pudiera darse la circunstancia de que se tratara de un mismo QTL con efecto pleiotrópico para los dos caracteres analizados o bien que en esta región genómica existen dos QTL con cierto grado de ligamiento que pudieran afectar en alguna medida tanto a CPA como a CPP.

Para resolver la cuestión se planteó un análisis con WinLoki (con 1000000 iteraciones) testando la presencia de dos QTL en el cromosoma 6 bovino para cada uno de los

caracteres analizados. Los resultados se muestran en la figura 4. Para ambos caracteres se encuentra un solo QTL que se localizarían a 40,5 cM (CPA) y 152,5 cM (CPP). En todo caso parece posible descartar la existencia de QTLs en el cromosoma 6 bovino con efecto pleiotrópico para CPA y CPP.

Se espera que WinLoki pueda convertirse en una herramienta útil para los investigadores que quieran utilizar Loki y tengan como entorno de trabajo el sistema operativo Microsoft Windows®. Este programa se publica bajo la misma licencia que Loki, es decir, la licencia BSD modificada, lo que permite su libre distribución, ejecución y modificación por parte del usuario. El código fuente se encuentra disponible en la página de WinLoki (<http://winloki.sourceforge.net>) en la sección de Descarga. Siendo software libre, permite ejecutar, modificar y distribuir este programa de una forma totalmente legal, ayudando a personalizarlo para necesidades muy concretas. WinLoki es un proyecto abierto a cualquier colaboración de desarrollo del programa.

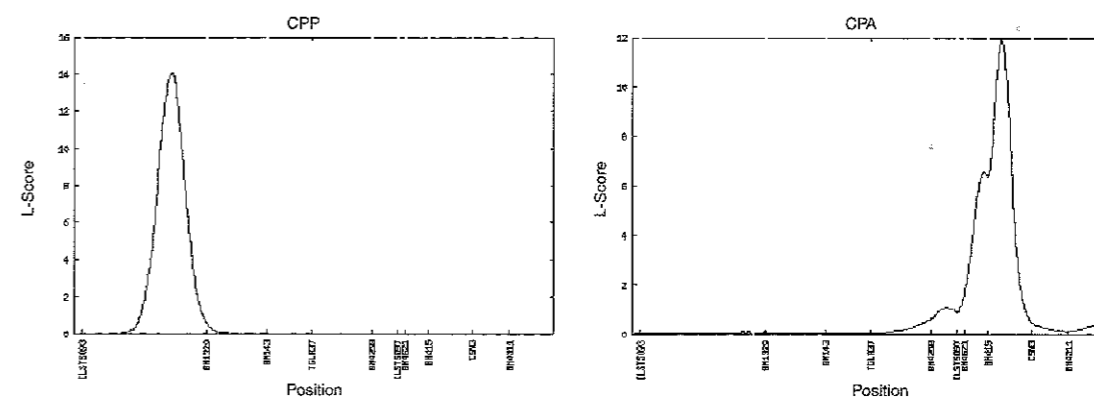


Figura 4 Análisis bayesiano para localización de QTLs en el cromosoma 6 bovino para los caracteres Colocación de Pezones Anteriores (CPA) y Colocación de Pezones Posteriores (CPP).

Figure 4 Bayesian analysis performed for QTL mapping on bovine chromosome 6 for the traits Fore Teat Placement (CPA) and Rear Teat Placement (CPP).

Agradecimientos

WinLoki se ha desarrollado durante una estancia de Samuel Iglesias Gonsálvez en el Área de Genética y Reproducción Animal del SERIDA amparada en un Convenio de Colaboración suscrito entre la Universidad de Oviedo (Escuela de Ingenieros Técnicos de Telecomunicaciones) y el SERIDA. Los autores agradecen a Simon Heath su colaboración durante el desarrollo de WinLoki. Samuel Iglesias agradece a los usuarios de ACTEON (<http://www.dcam.upv.es/acteon>) las sugerencias que han permitido mejorar la versión inicial de WinLoki.

Bibliografía

- Álvarez I, Arranz JJ, Fernández I, Royo LJ, Goyache F, 2003. Resultados preliminares de un estudio de QTL en el cromosoma 6 bovino para caracteres de producción lechera en una población frisona asturiana. ITEA, 24 Vol Extra II: 423-425.
- Arranz JJ, 2000. Utilización de *genome scan* para la detección de regiones cromosómicas que expliquen parte de la varianza aditiva y el posterior de estudio de genes candidatos. ITEA 96: 173-186.
- de Koning DJ, Pong-Wong R, Varona L, Evans GJ, Giuffra E, Sanchez A, Plastow G, Noguera JL, Andersson, L, Haley CS, 2003. Full pedigree quantitative trait locus analysis in commercial pigs using variance components. *J. Anim Sci.* 81: 2155-2163.
- Díez-Tascón C, Bayón Y, Arranz JJ, de la Fuente F, San Primitivo F, 2001. Mapping quantitative trait loci for milk production traits on ovine chromosome 6. *J. Dairy Res.* 68: 389-397.
- Heath SC, 1997. Markov Chain Monte Carlo segregation and linkage analysis for oligogenic models. *Am. J. Hum. Genet.* 61: 748-760.
- Heath SC, 2002. Loki 2.4.5. A package for multi-point linkage analysis on large pedigrees using reversible jump Markov Chain Monte Carlo. Centre National de Génétique, Evry, France.
- Knott SA, Elsen JM, Haley CS, 1996. Methods for multiple-marker mapping of quantitative trait loci in half-sib populations. *Theor. Appl. Genet.* 93: 71-80.
- Lander ES, Green P, 1987. Construction of Multi-locus Genetic Linkage Maps in Humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 2363-2367.
- Schnabel RD, Sonstegard TS, Taylor JF, Ashwell MS, 2005. Whole-genome scan to detect QTL for milk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families. *Anim. Genet.* 36: 408-16.
- Szyda J, Liu Z, Reinhardt F, Reents R, 2005. Estimation of Quantitative Trait Loci Parameters for Milk Production Traits in German Holstein Dairy Cattle Population. *J. Dairy Sci.* 88: 356-367.
- Visscher PM, Haley CS, Heath SC, Muir WJ, Blackwood DHR, 1999. Detecting QTL for uni- and bipolar disorder using variance component method. *Psych. Genet.* 9: 75-84.
- Wang S, Basten CJ, Zeng ZB, 2005. Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. (<http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>).
- Weller JI, 2001. Quantitative Trait Loci analysis in animals. CABI Publishing, New Cork, EE.UU.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)