

## ESTUDIO DE ASOCIACIÓN GENÓMICO PARA CARACTERES DE CRECIMIENTO, CANAL Y CALIDAD DE LA CARNE EN CERDOS

Ramayo-Caldas, Y., Mercadé, A., Castelló, A., Rodríguez, C., Alves, E., Casellas, J., Noguera, J.L., Díaz, I., Pérez-Enciso, M., Fernández, A.I. y Folch, J.M.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, Spain. E-mail: yulixaxis.ramayo@uab.es

### INTRODUCCIÓN

Desde la aparición de la Genómica en la década de los 90, un objetivo importante de la genética animal ha sido descifrar la base molecular de los caracteres de interés socio-económico en especies domésticas. El *Porcine SNP60 BeadChip* (Illumina, Santa Clara, CA, EUA) ha constituido una valiosa herramienta y ha permitido incrementar el número y densidad de marcadores para evaluar la asociación entre el genotipo de los *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) y los fenotipos de caracteres productivos. En comparación con la detección clásica de QTLs, los estudios de asociación con SNPs distribuidos a lo largo del genoma (*Genome-Wide Association Study*, GWAS) permiten capturar una mayor proporción de la varianza genética, especialmente dentro de líneas o razas. Se ha demostrado mediante simulaciones que sobre todo para grandes tamaños muestrales los estudios de asociación (GWAS) permiten incrementar la potencia y precisión de las estimas, facilitando por tanto la elección y mapeo fino de genes candidatos (Ledur et al., 2010). Estudios previos de nuestro grupo han identificado QTLs para un importante número de caracteres implicados en la variación fenotípica de la calidad de la carne y composición de ácidos grasos en un cruce Ibérico x Landrace (IBMAP) (Perez-Enciso et al., 2000; Varona et al., 2002; Clop et al., 2003; Mercadé et al., 2005). Los objetivos del presente trabajo son la implementación del GWAS con información genotípica de SNPs en tres cruces experimentales para evaluar la segregación de los QTLs previamente descritos e identificar nuevas regiones y genes candidatos asociados al crecimiento, conformación y la calidad de la carne porcina.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Material animal y fenotipos.** Se analizaron un total de 279 individuos pertenecientes a tres generaciones del cruce IBMAP: 56 F3 y dos retrocruces con hembras Landrace (79 BC y 144 BC1\_LD). En el estudio de asociación se incluyeron un total de 41 fenotipos (14 entre crecimiento y calidad de la canal y 27 entre composición e índices metabólicos de los ácidos grasos).

**Genotipado y control de calidad.** Los individuos fueron genotipados con el *Porcine SNP60 BeadChip* (Illumina) utilizando el protocolo *Infinium HD Assay Ultra* (Illumina). Inicialmente, se partió de un total de 62.612 SNPs con un *call rate* superior a 0,98. Utilizando el programa *Plink* (Purcell et al., 2007), se actualizaron las coordenadas genómicas según la última versión de la secuencia del genoma porcino (*Sscrofa10 Assembly*). Se eliminaron posteriormente los SNPs localizados en más de dos posiciones así como los que tenían una *Minor Allele Frequency* (MAF) inferior al 5 % y valores de *missing genotypes* superiores al 5%. Finalmente, se obtuvieron un total de 54.988 SNPs informativos con una tasa de genotipado superior al 99%.

**Modelo estadístico:** El análisis de asociación (GWAS) se realizó con la nueva versión del programa *Qxpack5* (Perez-Enciso y Misztal, 2004). Todos los fenotipos fueron analizados bajo dos modelos, considerando efectos aditivos (**MII**) y la relación entre estos y los efectos dominantes (**MIIad**).

$$\text{MII: } y_{ijk} = \text{Sex}_i + \text{Batch}_{k+} + c_i + a_i + \mu_i + e_{ijk}$$

$$\text{MIIad: } y_{ijk} = \text{Sex}_i + \text{Batch}_{k+} + c_i + a_i + d_i + \mu_i + e_{ijk}$$

donde:

$y_i$ : corresponde al fenotipo

$\text{Sex}_i$ : sexo del individuo  $i$  (definido como efecto fijo)

$\text{Batch}_i$ : Lote del individuo  $i$  (definido como efecto fijo)

$c_i$ : covariables

$a_i$ : efecto aditivo del SNP

$d_i$ : efectos dominantes del SNP

$\mu_i$ : efecto infinitesimal que se distribuye como  $N(0, \mathbf{A}\sigma_u^2)$

A: numerador de la matriz de parentesco.  
 $\sigma^2_u$ : varianza genética  
 e: residuo

Los p-values obtenidos fueron corregidos utilizando la librería de R *q-value* (Storey et al., 2004) considerando significativos aquellos SNPs que mostraran un FDR < 0.05.

En la gran mayoría de fenotipos analizados se utilizó como covariable el peso de la canal salvo para las medidas de peso vivo a diferentes edades y el peso vivo al sacrificio que fueron corregidos por las correspondientes edades.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nuestro primer objetivo fue analizar los genotipos obtenidos con el *Porcine SNP60 BeadChip* en tres cruces experimentales del material IBCMAP (BC, F<sub>3</sub>, BC1\_LD) para confirmar la segregación de QTLs descritos previamente en el cruce IBCMAP. La Tabla 1 muestra los QTLs validados en nuestro estudio. Para el total de animales genotipados con el chip de SNPs se confirmó la segregación del QTL del SSC4 para la longitud de la canal. Sin embargo, para el resto de fenotipos relacionados con composición e índices metabólicos de ácidos grasos sólo se valida la segregación de algunos QTLs en el retrocruce BC1\_LD. Este resultado sugiere diferencias entre las madres fundadoras de los tres cruces analizados en frecuencias alélicas de los SNPs y QTLs de estos caracteres fenotípicos.

El disponer de una mayor densidad de marcadores distribuidos a lo largo del genoma porcino permitió identificar nuevos QTLs en regiones genómicas poco cubiertas en los análisis anteriores con microsatélites. Para disminuir el número de falsas asociaciones consideramos solo las regiones candidatas estadísticamente significativas (q-value < 0.05) que contenían dos o más SNPs próximos. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre los modelos propuestos lo que sugiere una naturaleza aditiva para estos caracteres. Para la mayoría de los caracteres estudiados se observan diversos QTLs en diferentes posiciones del genoma (Tabla 2). El análisis clásico de QTLs corrobora en general la identificación de estos QTLs (Fernández, 2011). Este resultado puede ser de especial interés para futuros estudios que permitan incluir estas nuevas asociaciones en modelos más complejos que los presentados en este trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Clop et al. 2003. *Mamm. Genome* 14(9): 650-6.
- Fernández et al. 2011. XIV Jornadas sobre Producción animal, Zaragoza 17-18 Mayo.
- Ledur et al. 2010. *Heredity* 105(2): 173-82.
- Mercadé et al. 2005. *Mamm. Genome* 16(5): 374-382.
- Perez-Enciso et al. 2000. *J. Anim. Sci.* 78(10): 2525-31.
- Perez-Enciso, M. & Misztal, I. 2004. *Bioinformatics* 20(16): 2792-8.
- Purcell et al. 2007. *Am. J. Hum. Genet.* 81(3): 559-75.
- Storey et al. 2004. *J. R. Stat. Soc. Ser. B Stat. Methodol.* 66: 187-205.
- Varona et al. 2002. *Genet. Res.* 80(2): 145-54.

**Tabla 1.** QTLs previamente descritos que se confirman en el GWAS

Fenotipo	Abreviatura	Crom.	Referencia	Material Animal
Longitud Canal	LC	4	Varona, L. et al., 2002 Clop, A. et al., 2003	F3, BC, BC1_LD
		17	Mercadé, A et al., 2005 Varona, L. et al., 2002	F3, BC, BC1_LD
% Ácido Palmítico	C16:0	8	Clop, A. et al., 2003	BC1_LD
% Ácido Palmitoleico	C16:1 (n-7)	8	Clop, A. et al., 2003 Perez-Enciso, M. et al., 2000	BC1_LD
% Ácido Linoleico	C18:2(n-6)	4	Clop, A. et al., 2003	BC1_LD
Longitud media de cadena de carbono	ACL	8	Clop, A. et al., 2003	BC1_LD
Índice de doble enlaces	DBI	4	Clop, A. et al., 2003	BC1_LD

**Tabla 2.** Nuevos QTLs identificados en el GWAS.

Calidad canal	N	Media	Crom.	Material Animal
Longitud Canal (cm)	265	82.03	1, 16	F3, BC, BC1_LD
Peso Ambos Jamones (Kg)	265	21.57	1,10, 12	F3, BC, BC1_LD
Chuletas (Kg)	265	7.28	4,9, 11	F3, BC, BC1_LD
<b>Crecimiento</b>				
Peso vivo 125 días (Kg)	260	57.88	1, 13, 16	F3, BC, BC1_LD
Peso vivo 155 días (Kg)	260	62.55	13, 14, X	F3, BC, BC1_LD
Peso vivo 180 días (Kg)	260	99.61	2, 13, X	F3, BC, BC1_LD
<b>Composición A. Grasos</b>				
C14:0	144	1.18	5, 17	BC1_LD
C16:0	144	22.65	1,2,15, 17,18	BC1_LD
C16:1(n-7)	144	2.48	4, 6	BC1_LD
C18:1(n-9)	144	40.29	6,11	BC1_LD
C18:2(n-6)	144	10.27	1, 6, 14	BC1_LD
C20:0	144	0.25	16	BC1_LD
<b>Índices metabólicos A.G</b>				
SFA	144	38.49	1, 8, 13	BC1_LD
UI	144	2.04	1, 8, 13,14	BC1_LD
DBI	144	0.79	13	BC1_LD
MUFA	144	48.19	1,4, 6, 11	BC1_LD
PUFA	144	13.20	1, 4	BC1_LD
PUFA/SFA	144	0.35	1, 4,13,14	BC1_LD
MUFA/SFA	144	1.25	1, 4, 6, 11	BC1_LD

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto MICINN AGL2008-04818-C03/GAN y por el Programa de Innovación Consolider-Ingenio 2010 (CSD2007-00036 “Centro de Investigación en Agrigenómica”). Yulixaxis Ramayo Caldas es becario del programa de Formación de Personal Universitario (AP2008-01450). Agradecemos además al Dr. Martien Groenen (Wageningen, NL) por la anotación de los SNPs en el Assembly10 así como al Dr. Jordi Estelle y al MSc Yang Bin por su valiosa colaboración.

#### **GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY ON GROWTH, CARCASS AND MEAT QUALITY IN AN IBERIAN x LANDRACE CROSS**

A genome-wide association study (GWAS) on growth, carcass and meat quality was performed in 279 animals from an Iberian x Landrace cross (IBMAP). In this study we analyzed a total of 41 traits, 14 for grow and carcass quality and 27 for fatty acid composition and index of fatty acid metabolism. All 279 animals were genotyped with the Porcine SNP60 BeadChip, after quality control we obtained a total of 54,988 informative SNPs; the GWAS was performed using the last version of Qxpak software. The main goal of this study was to test the segregation of previously reported QTLs using the whole-genome SNP genotypes in three experimental crosses (56 F3, 79 BC and 144 BC1\_LD) and also to detect new regions and candidate genes. The segregation of some of the previously reported QTLs was validated mainly in pig chromosomes 4 and 8 and we also reported new interesting candidate regions.

**Keywords:** pig, GWAS, QTL, growth, meat quality, Iberian.