

## DETECCIÓN CLÁSICA DE QTL UTILIZANDO NUEVAS HERRAMIENTAS GENÓMICAS

Fernández, A. I., Alves, E., Ramayo-Caldas, Y., Mercadé, A., Noguera, J.L., Silió, L., Folch, J.M. y Rodríguez, C.

Departamento Mejora Genética Animal. SGIT-INIA. Ctra. Coruña Km7.5 28040. (Madrid). E-mail: avila@inia.es

### INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la base genética que controla el crecimiento, deposición grasa, conformación y la calidad de la carne y grasa en el cerdo ayudarán en el diseño de estrategias de selección, que permitan incrementar el rendimiento y la calidad de sus productos. Durante las últimas décadas se han llevado a cabo numerosos estudios que han permitido la identificación de más de 2.000 QTL para este tipo de caracteres, sin embargo muy pocas han sido las mutaciones responsables (QTN) identificadas. El principal problema en la identificación de los QTN ha sido la amplitud de los intervalos de confianza de los QTL, en parte determinado por el limitado número de marcadores disponibles, lo que hace muy difícil la identificación del gen responsable y la mutación causal. Durante los últimos años se han desarrollado nuevas tecnologías en genética molecular que permiten aumentar el conocimiento del genoma y brindar nuevas herramientas útiles para la identificación de genes y mutaciones causales, como son la secuenciación masiva o los chips de genotipado masivo de mutaciones puntuales (SNPs). En la especie porcina, el desarrollo del "Porcine SNP60 Beadchip" permite el genotipado simultáneo de más de 60.000 SNPs (Ramos et al., 2009).

El objetivo del presente trabajo es la identificación de QTL para caracteres de crecimiento, deposición grasa y rendimiento en porcino, utilizando la información del genotipado masivo de SNPs en tres generaciones de un cruce experimental Ibérico x Landrace.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales, registros fenotípicos y genotipado:** Para el estudio se han utilizado 303 animales pertenecientes a tres generaciones del cruce experimental Ibérico x Landrace (F3 y dos retrocruces), con registros de pesos, espesor de tocino dorsal, grasa intramuscular y rendimientos de jamones y paletas. Estos mismos animales fueron genotipados para 62.163 SNPs con el chip "Porcine SNP60 Beadchip" en la Unidad de Genética y Mejora de la UAB. Los datos genotípicos fueron filtrados utilizando los software GenomeStudio (Illumina) y PLINK (Purcell et al., 2007), eliminando aquellos SNPs que fallaron en el genotipado, presentaron más de un 10% de genotipos faltantes o que presentaron una frecuencia del alelo menos frecuente (MAF) inferior al 5%.

**Selección de SNPs por cromosoma:** Se realizó una selección de los SNPs siguiendo dos criterios, localización e informatividad. Los SNPs fueron ordenados siguiendo la anotación suministrada por el Dr. Martin Groenen (comunicación personal) de acuerdo a la última versión del genoma porcino Sscrofa10. Para el barrido genómico, se seleccionaron aquellos SNPs con un MAF en el material analizado superior a 0,15 y distribuidos de forma equidistante a lo largo de cada uno de los cromosomas.

**Análisis estadísticos:** La construcción de los mapas de ligamiento para cada cromosoma se realizó utilizando la opción "fixed" de la última versión del software CRIMAP v2.503. El barrido genómico se llevó a cabo utilizando el software Qxpack v.5-1 (Pérez-Enciso y Misztal, 2004). Se empleó el siguiente modelo estadístico  $Y = X\beta + Zu + c_a + e$ .

Para considerar la realización de un test cada cM, a partir de los valores nominales de  $P$  obtenidos para cada carácter se calcularon los valores  $q$  (Storey et al., 2004) y se establecieron como significativos aquellos inferiores a una tasa de falso descubrimiento del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del mapa de ligamiento mostraron que existen errores en la asignación de las posiciones físicas de los SNPs, aún en la anotación disponible más reciente. Estos errores se han identificado por la estima de un número elevado de recombinantes entre marcadores supuestamente adyacentes. Como se muestra en la Figura 1 algunos errores corresponderían a SNPs puntuales erróneamente localizados, mientras que en otros casos se trata de bloques que abarcan varios SNPs. Destacar que en la mayoría de los casos analizados, es en el principio y final de los cromosomas donde se han detectado un mayor número de errores de localización.

SSC11				SSC10					
264	ASGA0050759	0.000	0.000	82.532	469	MAR20041458	0.000	0.000	339.677
265	DBKK0000434	0.003	0.273	82.532	470	MARC0072480	0.500	100.000	339.677
266	ASGA0050778	0.000	0.000	82.805	471	ALGA0103072	0.000	0.000	439.677
267	ASGA0092053	0.229	24.684	82.805	472	ASGA0090608	0.000	0.000	439.677
268	MARC0088610	0.190	20.013	107.489	473	ASGA0105194	0.424	62.536	439.677
269	MARC0105416	0.000	0.000	127.502	474	MAR20041458	0.000	0.000	502.213
270	ALGA0110858	0.070	7.093	127.502	475	MARC0070269	0.038	3.777	502.213
271	ALGA0062191	0.000	0.000	134.595	476	MARC0039968			505.991

**Figura 1.** Detalle de los mapas de ligamiento construidos con 490 SNPs para los cromosomas porcinos SSC11 y SSC10

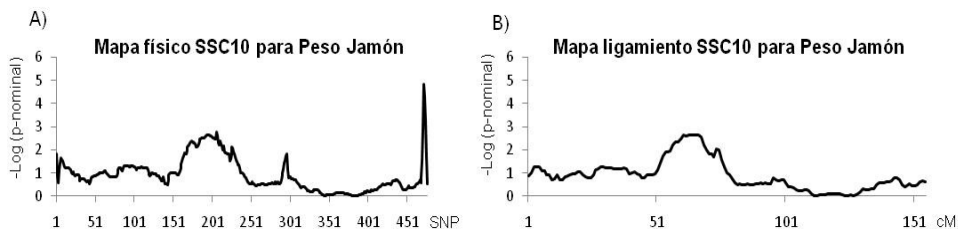
Una vez construido los mapas de ligamiento de cada cromosoma, eliminando aquellos SNPs que muestran una localización errónea, se procedió a realizar el barrido genómico. En la Tabla 1 se muestran los primeros resultados obtenidos en los cromosomas SSC1, SSC10 y SSC11.

**Tabla 1.** QTL identificados en los cromosomas SSC1, SSC10 y SSC11 para espesor de tocino dorsal ajustado a 90kg (ETD90kg), grasa intramuscular (GRIN), Peso ajustado a 150 días (P150d), peso de jamones (PJamón, kg) y paletas (PPaleta, kg) asumiendo una tasa de falso descubrimiento FDR = 0,05.

Carácter	Media	Cromosoma	cM	Efecto aditivo	P-nominal	Valor q
ETD90kg	14,11 mm	SSC1	115	1,322 (0,372)	$0,55 \times 10^{-3}$	$0,20 \times 10^{-2}$
		SSC10	103	1,227 (0,354)	$0,73 \times 10^{-3}$	$0,25 \times 10^{-2}$
		SSC11	32	-1,368 (0,323)	$0,42 \times 10^{-4}$	$0,14 \times 10^{-2}$
GRIN	1,53 %	SSC1	44	-0,418 (0,122)	$0,74 \times 10^{-3}$	$0,21 \times 10^{-1}$
P150d	80,41 kg	SSC10	30	-5,008 (1,555)	$0,17 \times 10^{-3}$	$0,45 \times 10^{-1}$
PJamón	10,82 kg	SSC11	37	0,477 (0,139)	$0,74 \times 10^{-3}$	$0,30 \times 10^{-1}$
PPaleta	5,07 kg	SSC11	37	0,252 (0,066)	$0,18 \times 10^{-3}$	$0,22 \times 10^{-1}$

Un análisis preliminar de detección de QTL utilizando únicamente la información de localización de los SNPs del mapa físico, nos llevó a identificar “falsos QTL”. Un ejemplo notable es el de un QTL para pesos de jamones y paletas aparentemente identificado en el cromosoma SSC10. Su posición correspondía a una región comprendida por tres SNPs erróneamente mapeada. Los resultados del análisis basado en el mapa de ligamiento, del que se excluyeron estos SNPs, no confirmó dicho QTL, al menos en esa región del cromosoma (Figura 2). La determinación de la localización real de este grupo de marcadores permitiría verificar si esta región contiene verdaderamente genes que regulan estos caracteres. Sin embargo, no existe la suficiente potencia en nuestro diseño, como ocurre en otros estudios de este tipo, para contar con un número suficiente de meiosis

informativas que nos permita localizar estos marcadores de manera fiable. Esta dificultad se verá en gran medida superada en los próximos meses con la mejora del ensamblaje y anotación del genoma porcino.



**Figura 2.** Perfiles de significación de la detección de QTL para el peso de los jamones utilizando la información del mapa físico (A) y de ligamiento (B) del cromosoma SSC10

Los barridos genómicos previos del material del cruce experimental IBCMAP se basaron en microsatélites distribuidos a lo largo del genoma (entre 3 y 7 por cromosoma), que permitieron identificar QTL para caracteres de crecimiento, deposición grasa, conformación y composición de ácidos grasos principalmente en los cromosomas SSC4, SSC6, SSC8, SSC12 y SSCX (Pérez-Enciso y Varona, 2000; Óvilo et al., 2000; Clop et al., 2002). Sin embargo este nuevo análisis con más de 400 SNPs por cromosoma ha permitido identificar nuevos QTL en cromosomas donde no se habían detectado estos efectos (ej. SSC1, SSC10 y SSC11), probablemente debido a la baja densidad de marcadores utilizado en los análisis anteriores. Varios de los QTLs detectados presentan efectos crípticos, de signo opuesto a lo esperado de acuerdo con las diferencias entre las líneas parentales. Análisis paralelos de *Genome-Wide Association* parecen corroborar estos resultados (Ramayo-Caldas et al., 2011).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Óvilo et al. 2000. *Mamm. Genome* 11: 344-346.
- Pérez-Enciso, M. & Varona, L. 2000. *Genetics* 155: 391-405.
- Pérez-Enciso et al. 2000. *J. Anim. Sci.* 78: 2525-2531.
- Purcell et al. 2007. *Am. J. Hum. Genet.* 81(3):559-7.
- Ramayo-Caldas et al. 2011. XIV Jornadas Sobre Producción Animal, Zaragoza 17-18 Mayo.
- Ramos et al. 2007. *Plos ONE* 4(8): 1-13.
- Storey et al. 2004. *J. R. Stat. Soc. Series B* 66: 187-205.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el proyecto MICINN AGL2008-04818-C03 y CSD2007-00036. Agradecemos la asistencia técnica de F García, MA López, R Benitez (INIA) y A Castelló (UAB). Y Ramayo-Caldas disfruta de una beca FPU.

#### CLASSIC QTL SCAN USING NEW GENOMIC TOOLS

**ABSTRACT:** Classic QTL scans have allowed to identify thousands of QTL for porcine economic important traits, despite the QTN identification has not been very successful. During the last years a great number of new genomic tools have been developed with the final aim of identifying the genetics variants regulating relevant traits. The aim of the present study was to carry out a new QTL scan for productive traits in the Iberian x Landrace experimental cross, using the genotyping information from the recently developed Porcine SNP60 Beadchip. First, linkage maps were built using the updated version of CRIMAP and the results showed mapping errors for several SNPs which should be taken into account in further analyses. A previous QTL scan with microsatellites allowed us to identify relevant QTL, however the new QTL scan carried out with high density marker maps in the present study has allowed us to identify new QTL in chromosomes poorly covered by the initial microsatellite scan, such as SSC1, SSC10 and SSC11.

**Keywords:** QTL scan, porcine, SNP chip.