

ESTUDIO DE ASOCIACIÓN PARA LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN GRASA DORSAL EN UN CRUCE IBÉRICO X LANDRACE CON UN CHIP DE 144 SNPs DEL SSC8

Revilla, M.¹, Ramayo-Caldas, Y.^{1,2}, Castelló, A.¹, Corominas, J.^{1,2}, Puig-Oliveras, A.^{1,2}, Ibáñez-Escriche, N.³, Muñoz, M.⁴, Ballester, M.¹, Folch, J.M.^{1,2}

¹Centre de Recerca en Agrigenòmica (CRAG), Consorci CSIC-IRTA-UAB-UB, Campus UAB, Bellaterra, 08193. ²Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra. ³Genètica i Millora Animal, IRTA, Av Rovira Roure 191, 25198 Lleida. ⁴Departamento Mejora Genética Animal, SGIT-INIA, Ctra. Coruña Km 7.5, 28040 Madrid.

E-mail: manuel.revilla@cragenomica.es

INTRODUCCIÓN

El contenido y composición de ácidos grasos en porcino resulta un parámetro de creciente interés por su efecto sobre el rendimiento de la canal y la calidad de la carne. En un cruce F2 Ibérico x Landrace se identificó (Clou *et al.*, 2003) un QTL en el cromosoma 8 porcino (SSC8) para el porcentaje de los ácidos grasos palmítico y palmitoleico y para la longitud media de los ácidos grasos en grasa dorsal. Recientemente, se ha realizado un análisis de asociación genómico (GWAS) (Ramayo-Caldas *et al.*, 2012) con los datos genotípicos del chip de 60 K SNPs de *Illumina* y la composición de ácidos grasos en músculo (*Longissimus dorsi*) en 144 animales del retrocruce BC1_LD (25% Ibérico, 75% Landrace). Este estudio ha permitido refinar la posición del QTL del SSC8 e identificar el gen *ELOVL6* como potente candidato posicional y funcional. *ELOVL6* está implicado en la lipogénesis *de novo*, actuando en la elongación de ácidos grasos saturados y monoinsaturados. Un polimorfismo en la región promotora de este gen (*ELOVL6*:c.-533C>T) está asociado con el porcentaje de palmítico y palmitoleico en músculo y tejido adiposo (Corominas *et al.*, 2013). Animales con un genotipo diferente para el polimorfismo *ELOVL6*:c.-533C>T, mostraron diferencias de expresión del gen *ELOVL6* en tejido adiposo, donde una menor expresión del gen resultó en un mayor porcentaje de palmítico y palmitoleico en músculo y tejido adiposo, en concordancia con la función del gen (Corominas *et al.*, 2013). El objetivo del presente trabajo es estudiar el QTL del SSC8 para la composición de ácidos grasos en grasa dorsal en la generación F2 del cruce IBCMAP con un panel refinado de 144 SNPs informativos distribuidos a lo largo del SSC8.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material animal y fenotipos: El material animal utilizado procede del cruce IBCMAP, generado por el cruce inicial de verracos Ibéricos Guadyerbas y cerdas Landrace (Pérez-Enciso *et al.* 2000). Se analizaron un total de 470 animales F2 procedentes del cruce de 6 machos y 67 hembras F1. En el estudio de asociación se incluyeron los datos de composición de 20 ácidos grasos en grasa dorsal, en el rango del C12:0 al C22:0 (Clou *et al.*, 2003). También se realizaron estudios de asociación por familias de medios hermanos paternos. Para el análisis se utilizaron 426 animales pertenecientes a las 4 familias con mayor número de descendientes.

Genotipado y control de calidad. Se determinó el genotipo de un total de 144 SNPs del SSC8 en 470 animales mediante la metodología de *GoldenGate* en un chip *VeraCode (Illumina)* donde se incluyeron 142 SNPs del *Porcine SNP60K BeadChip (Illumina)* y 2 SNPs de genes candidatos: *MTTP* (Estellé *et al.*, 2009) y *FABP2* (Estellé *et al.*, 2009). Utilizando el programa *Plink* (Purcell *et al.*, 2007), se actualizaron las coordenadas genómicas de los SNPs (*Sscrofa10.2*). Posteriormente, se eliminaron los SNPs con problemas de asignación de genotipos (*cluster analysis* de *GenomeStudio*,

Illumina) y con una frecuencia del alelo minoritario (MAF) inferior al 5 %. Finalmente, se obtuvieron un total de 133 SNPs informativos.

Modelo estadístico: El análisis de asociación fue realizado con la nueva versión del programa *Qxpak5* (Pérez-Enciso y Misztal, 2011). Todos los fenotipos fueron analizados bajo el siguiente modelo:

$$y_{ijklkm} = \text{Sexo}_i + \text{Lote}_j + \beta c_i + \lambda_{ik} a_k + \mu_i + e_{ijklkm}$$

Donde y_{ijklkm} es el valor fenotípico de cada individuo

Sexo_i : sexo del individuo con 2 niveles $i=1,2$ (definido como efecto fijo)

Lote_j : Lote del individuo con 5 niveles $j=1, 2, 3, 4, 5$ (definido como efecto fijo)

β : Coeficiente de covariable

c_i : Peso de la canal de cada individuo

λ_{ik} corresponde al genotipo del SNP k para el individuo i , siendo $\lambda = -1$ (aa), 0 (Aa), $+1$ (AA)

a_k : es el efecto aditivo de sustitución alélica del SNP k

μ_i : Efecto infinitesimal que se distribuye como $N(0, \mathbf{A} \sigma^2_u)$

\mathbf{A} : Matriz de parentesco

σ^2_u : varianza genética aditiva

e_{ijklkm} : residuo

Los p -valores obtenidos fueron corregidos utilizando la librería de R q -value (Storey *et al.*, 2004) considerando significativos aquellos SNPs que mostraron un q -value $< 0,05$. La versión 2.15.2 de R (*R Development Core Team*, 2008) fue utilizada para calcular los estadísticos descriptivos para los 20 caracteres analizados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El primer objetivo fue diseñar un chip con aquellos SNPs que presentaban una máxima informatividad, distribuidos uniformemente a lo largo del SSC8. Posteriormente, se realizó un estudio de asociación con 133 SNPs informativos y 470 animales F2. Se observaron asociaciones significativas en el 50% de los ácidos grasos estudiados (10/20) incluyendo los descritos previamente en grasa dorsal (Clop *et al.*, 2003): C16:0, C16:1 (n-7) y ACL. El genotipado de nuevos marcadores distribuidos a lo largo del SSC8 ha permitido identificar nuevos QTLs (C16:1 y C18:0) en regiones genómicas poco cubiertas en los análisis anteriores con microsatélites (C14:0, C18:1 (n-9), C18:0). Los resultados obtenidos concuerdan con los obtenidos recientemente en grasa intramuscular en un retrocruce de la población experimental ILMAP (BC1_LD) (Ramayo-Caldas *et al.*, 2012), siendo la región 117,4-121,0 Mb del SSC8 la más asociada a los ácidos grasos C16:1 (n-7) y C16:0. En esta región se localiza el gen *ELOVL6*. Estos resultados refuerzan la hipótesis de un QTL con efecto pleiotrópico sobre el perfil de estos ácidos grasos en grasa dorsal y en músculo.

En el análisis por familias se obtuvieron asociaciones significativas en el 80% de los ácidos grasos estudiados, observándose una fuerte asociación en el SSC8 con el ácido palmítico en las cuatro familias estudiadas (*Figura 1*). Cabe destacar la detección en algunas de las familias de una región localizada en la posición 92,7-93,2 Mb y asociada con C16:0, C16:1, C18:0, C18:1(n-9), ACL, C18:1/C16:1, C16:1/C16:0 y C18:0/C16:0. En esta región se encuentran los genes *SETD7* y *MAML3*. El gen *SETD7* desempeña un papel central en la activación transcripcional de genes como la colagenasa o la insulina. El gen *MAML3* actúa como un coactivador transcripcional de las proteínas NOTCH. Los resultados sugieren la presencia de dos QTLs del SSC8 para la composición de ácidos grasos en grasa dorsal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Clop *et al.* 2003. *Mamm. Genome* 14(9): 650-6. • Y. Ramayo-Caldas *et al.* 2011. XIV Jornadas sobre Producción animal, Zaragoza 17-18 Mayo. • Y. Ramayo-Caldas *et al.*

2012. Journal of Animal Science. • Jordi Corominas *et al.* 2013. Plos One 8(1). • Pérez-Enciso, M. & Misztal, I. 2011. Bioinformatics. • J. Estellé *et al.* 2009 Journal of Animal Breeding and Genetics, 126: 52–58. • J. Estellé *et al.* 2009 Animal Genetics, 40: 813–820. • R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos MICINN AGL2008-04818-C03/GAN y MINECO AGL2011-29821-C02 y por el Programa de Innovación Consolider-Ingenio 2010 (CSD2007-00036). M. Revilla es estudiante del Máster Interuniversitario Mejora Genética Animal y Biotecnología de la Reproducción (Universidad Politécnica de Valencia y Universidad Autónoma de Barcelona). Y. Ramayo-Caldas ha sido financiado con una beca FPU (AP2008-01450), J. Corominas con la beca FPI del Ministerio de Educación (BES-2009-018223) y A. Puig-Oliveras con una beca PIF (458-01-1/2011).

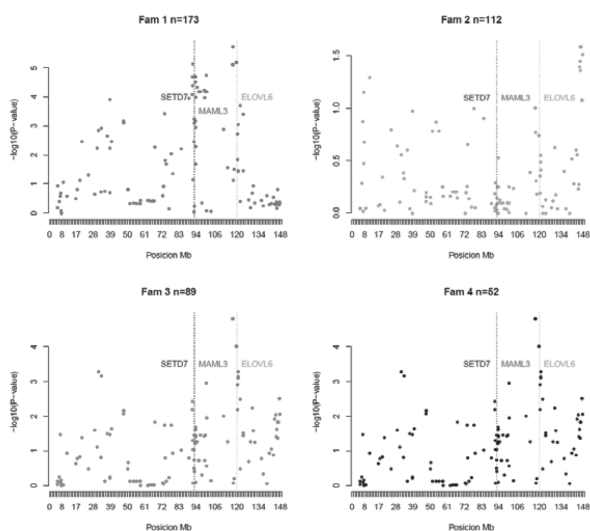


Figura 1: Análisis de asociación por familias para el contenido de C16:0 en grasa dorsal. Las posiciones en Mb son relativas a *Sscrofa10.2*. Las líneas verticales discontinuas indican la ubicación de genes candidatos posicionales.

ASSOCIATION STUDY FOR BACKFAT FATTY ACID COMPOSITION IN AN IBERIAN X LANDRACE CROSS WITH A 144 SNP CHIP OF SSC8

ABSTRACT: An association study for backfat fatty acid composition with the genotypes of 144 SNP of SSC8 was performed. Twenty traits, related with fatty acid composition and index of fatty acid metabolism in backfat, were analyzed. A total of 470 F2 animals from an Iberian x Landrace cross (IBMAP) were genotyped. After quality control, a total of 133 informative SNPs were retained. Two QTLs were found in the association analysis. The QTL in the 117.4-121.0 Mb region was in concordance with a previously identified QTL for intramuscular fatty acid composition, where *ELOVL6* is a strong candidate gene. An additional QTL, confirmed in an analysis of families, was found in 92.7 to 93.2 Mb position, where *SETD7* and *MAML3* genes are located.

Keywords: pig, adipose tissue, QTL.