

ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN GENÓMICO PARA EL CONTENIDO Y LA COMPOSICIÓN DE LA GRASA INTRAMUSCULAR EN CERDOS DUROC

¹Manunza*, A, ¹González*, R., ²Quintanilla, R., ¹Mercadé, A., ¹Castelló, A, ²Hernández, J., ³Pena, R.N., ⁴Casellas, J. y ¹Amills, M.

¹Departament de Genètica Animal, Centre de Recerca en Agrigenòmica, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193; ²Genètica i Millora Animal, IRTA, Lleida 25198;

³Departament de Producció Animal, Universitat de Lleida, Lleida 25198; ⁴Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193. (rayner.prendes@gmail.com). *Ambos autores comparten la primera autoría

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de los factores genéticos que regulan la variabilidad fenotípica del contenido y la composición de la grasa intramuscular (GIM) puede contribuir a mejorar las propiedades tecnológicas y el valor nutricional de la carne porcina. La implementación de los análisis de asociación a nivel genómico (GWAS) ha permitido progresar en el conocimiento de la arquitectura genética de este tipo de caracteres. En un estudio reciente, Ramayo-Caldas et al. (2012) identificaron 813 SNP, distribuidos en 43 intervalos cromosómicos, asociados con el porcentaje y la composición de GIM. Asimismo, se ha determinado que el gen *ELOVL6* contiene una posible mutación causal, a nivel de promotor, que explicaría la segregación de un QTL SSC8 para los ácidos grasos palmítico y palmitoleico (Corominas et al. 2013). El objetivo del presente trabajo consiste en realizar un GWAS para identificar regiones genómicas asociadas a la variación fenotípica del contenido y la composición de GIM en una población comercial Duroc, en la cual se ha obtenido registros fenotípicos en los músculos *gluteus medius* (GM) y *longissimus dorsi* (LD).

MATERIAL Y MÉTODOS

En el estudio de asociación se incluyeron los siguientes fenotipos: contenido de GIM y colesterol (Chol), así como el porcentaje de los ácidos grasos palmítico (C16:00), esteárico (C18:00), oleico (C18:1n9) y linoleico (C18:2n6c). Como material animal, se utilizó una población de 350 cerdos castrados pertenecientes a una línea comercial de la raza Duroc. La información genotípica se obtuvo con el Porcine SNP60 BeadChip (Illumina) mediante el protocolo *Infinium HD Assay Ultra*. Todos los análisis fueron realizados con el software PLINK v1.07 (Purcell et al., 2007). El número de SNP genotipados fue de 62,163 SNPs, sin embargo se eliminaron aquellos SNP cuyo alelo minoritario presentaba una frecuencia alélica inferior al 5%, así como aquéllos con un porcentaje de individuos no-genotipables superior al 5% o cuya segregación no concordaba con la ley de Hardy-Weinberg. Una vez finalizado este proceso de filtrado, el número de individuos y SNP disponibles fue de 320 y 38.800, respectivamente. Los fenotipos de lípidos musculares fueron analizados considerando tres modelos distintos:

- I- $Y_{ijk}(\text{GIM}) = \mu + L_i + F_{\text{cov}j} + a_{\text{SNP},k} + e_{ijk}$.
 II- $Y_{ik}(\text{Chol}) = \mu + L_i + a_{\text{SNP},k} + e_{ik}$.
 III- $Y_{jk}(\% \text{AG}) = \mu + L_j + F_{\text{cov}j} + a_{\text{SNP},k} + e_{jk}$.

Dónde: Y_i : Fenotipo, μ : Media general de las observaciones; L_i : Lote del individuo (4 niveles); $F_{j \text{ cov}}$: Espesor del tocino dorsal ($Y_{ijk}=\text{GIM}$); $F_{j \text{ cov}}$: GIM para ($Y_{jk}=\% \text{AG}$); $a_{\text{SNP},k}$: Efecto aditivo del marcador; e_i : Residuo. Los *P-values* nominales fueron corregidos mediante el test de permutación implementado en PLINK.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante la aproximación GWAS, se detectaron asociaciones significativas para 3 de los 6 fenotipos analizados. Concretamente 24 SNPs (4 no mapeados en Ensembl Sscrofa 10.2) localizados en los cromosomas SSC2, SSC3, SSC4, SSC8, SSC10 y SSC14 presentaron asociaciones significativas con GIM del músculo GM (Figura 1.a). Ningún SNP mostró significación, a nivel genómico, con el porcentaje de Chol en LD y GM. Respecto a la composición de AG, se observó la existencia de asociaciones significativas para los ácidos grasos palmítico y esteárico. En cuanto al palmítico en GM, 13 SNPs localizados en SSC5 (Figura 1.b) presentaron asociaciones significativas, mientras que en el caso del esteárico en GM y LD el número de marcadores con asociaciones fue mucho mayor (218 SNP). Su distribución fue la siguiente: para GM, 135 SNPs localizados en los cromosomas SSC1, SSC2, SSC4, SSC5, SSC12, SSC14, SSC17 y SSC18 (Figura 1.c); y para LD, 83 SNPs distribuidos en SSC3, 4, 6, 7, 13, 14 (Figura 1.d).

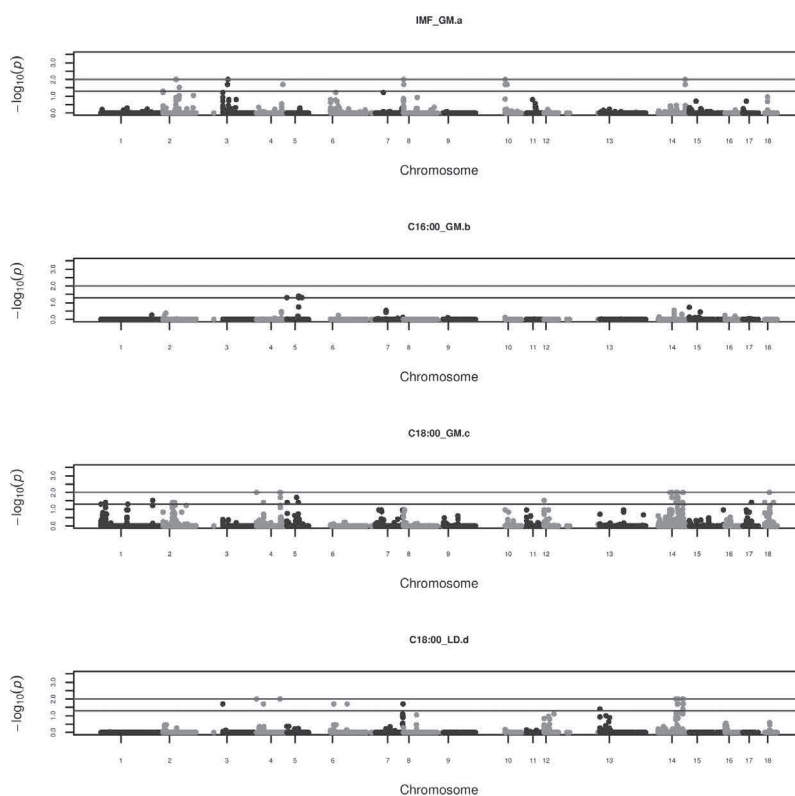


Figura 1. Manhattan plot de las asociaciones genómicas observadas en el análisis GWAS de los siguientes caracteres: a) GIM_GM, b) Palmítico_GM, c) Esteárico_GM, d) Esteárico_LD. Línea roja (p -value=0.01), línea azul (p -value=0.05).

Nuestros resultados fueron parcialmente concordantes con los obtenidos en esta misma población por Hernández-Sánchez et al. (2012). También Ramayo-Caldas et al. (2012) detectaron asociaciones significativas, para los niveles de ácidos grasos del LD, en cromosomas que coinciden con los detectados en este trabajo. El cromosoma con el mayor

número de asociaciones con el porcentaje de esteárico fue SSC14. Una región de SSC14 particularmente relevante es la que abarca los SNPs DIAS0004286, DRGA0014601 y ALGA0081626, puesto que contiene el gen *glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAM)* que juega un papel clave en la regulación de los niveles de triglicéridos (Hammond et al. 2002). Por otra parte, Uemoto *et al.* (2012) también detectaron QTL para palmítico, mirístico, oleico y esteárico en SSC14 (150-200 cM), y sugirieron que la mutación causal podría estar localizada en el gen de la esteroil-CoA desaturasa (*SCD1*), un enzima clave en la desaturación de ácidos grasos. Finalmente, se observó una baja concordancia posicional en los análisis GWAS a nivel de los músculos GM y LD, lo cual indica la presencia de algún factor músculo-específico que influye de manera diferencial en el almacenamiento y la composición de la grasa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Corominas, J., Ramayo-Caldas, Y., Puig-Oliveras, A., Pérez-Montarelo, D., Noguera, J.L., Folch, J.M., Ballester, M. 2013. PLoS One 8: e53687
- Hammond, L. E., Gallagher, P. A., Wang, S., Hiller, S., Kluckman, K. D., Posey-Marcos, E. L., Maeda, N., Coleman, R. A. 2002. Mol. Cell. Biol. 22: 8204-8214
- Hernández-Sánchez, J., Amills, M., Pena, R. N., Mercadé, A., Manunza, A., Quintanilla, R. 2012. J. Anim. Sci. (en prensa)
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P.I., Daly, M.J., Sham, P.C. 2007. Am. J. Hum. Genet. 81: 559-75
- Ramayo-Caldas, Y., Mercadé, A., Castelló, A., Yang, B., Rodríguez, C., Alves, E., Díaz, I., Ibáñez-Escriche, N., Noguera, J.L., Pérez-Enciso, M., Fernández, A.I., Folch, J.M. 2012. J. Anim. Sci. 90: 2883-9
- Uemoto, Y., Soma, Y., Sato, S., Ishida, M., Shibata, T., Kadowaki, H., Kobayashi, E., Suzuki, K. 2012. Anim. Genet. 43: 27-34.

Agradecimientos: Esta investigación ha sido financiada con los proyectos AGL2010-22208-C02 (Ministerio de Ciencia e Innovación) y CSD 2007-00036 (Ministerio de Ciencia e Innovación, Programa Consolider Ingenio 2010). Nuestro agradecimiento a *Selección Batallé S.A.* por proporcionar el material animal y por su inestimable colaboración en el protocolo experimental.

A GENOME-WIDE ASSOCIATION ANALYSIS FOR INTRAMUSCULAR FAT CONTENT AND COMPOSITION IN DUROC PIGS

ABSTRACT: Intramuscular fat (IMF), cholesterol (Chol) and fatty acid (FA) contents have important consequences on meat quality as well as on its nutritional properties. In this study we performed a genome-wide association analysis (GWAS) in a Duroc outbred population (N = 350) for IMF, Chol, palmitic, stearic, oleic (C18:1n9) and linoleic (C18:2n6c) percentages in the *gluteus medius* (GM) and *longissimus dorsi* (LD) muscles. Genotypes for 60,000 SNP were obtained with the Illumina Infinium HD Porcine SNP60 Beadchip. Association analyses were carried out with PLINK v1.07, and permutation tests were used to correct for multiple testing. A total of 24 SNPs were significantly associated with GM IMF on chromosomes SSC2, SSC3, SSC4, SSC8, SSC10 and SSC14. With regard to GM FA content phenotypes, associations were observed for palmitic (SSC5) and stearic (SSC1,2,4,5,12,14,17 and 18). Regarding the LD muscle, we found associations with stearic content (SSC3,4,6,7,13 and 14). It is worth to highlight that SSC14 contains most of the associations with muscle lipid traits and that, in general, there is limited concordance between results obtained in the GM and LD GWAS analyses.

Keywords: Genome-wide association analysis, Intramuscular fat, fatty acid, Pigs.