

VALIDACIÓN DE QTLs ASOCIADOS A GRASA INTRAMUSCULAR EN LA RAZA AVILEÑA-NEGRA IBÉRICA

Meneses, C.^{1,2}, Carabaño, M. J.¹, Quintero-Arboleda, X.¹, González, C.¹, Rueda, J.³ y Díaz, C.¹

¹Departamento de Mejora Genética Animal. INIA. ²Asociación de Ganaderos de Raza Avileña-Negra Ibérica. ³Departamento de Genética. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid. cdiaz@inia.es

INTRODUCCIÓN

La componente genética de los caracteres asociados a la calidad de la carne es relevante (Marshall, 1999) y por ello la selección genética puede ser una vía de la mejora de este carácter. Sin embargo, la obtención de fenotipos de calidad de carne es cara y se realiza en una fase tardía de la vida de los animales, lo que disminuye la eficiencia de selección. Por estas razones, los caracteres de calidad de carne pueden beneficiarse de forma clara de las ventajas de la selección genómica. Por otro lado sabemos que las características que más valoran los consumidores de “Carne de Avila” son el sabor y la terneza (Martín-Collado et al., 2012) y uno de los elementos clave en el sabor, y posiblemente, en la terneza es el contenido de grasa intramuscular (GIM) (Hocquette et al, 2010). Por otro lado en las últimas décadas se ha realizado una búsqueda intensa de QTLs asociados a caracteres de calidad de carne mediante el uso de marcadores de tipo microsatélites con mapeos de mayor o menor densidad, dando como resultados QTLs de mayor o menor tamaño dependiendo entre otros, de la densidad de mapeo, a partir de los cuales se identificaban genes candidatos posicionales profundizando en la funcionalidad de dichos genes en relación al carácter. Los resultados de dicha búsqueda pueden encontrarse en bases de datos públicas como AnimalGenome (www.animalgenome.org). En la actualidad, la búsqueda de QTLs se basan en análisis de asociación con chips de marcadores SNPs de distinto tamaño, para los cuales no existe un consenso claro de cómo ir desde la señal a la propuesta de genes candidatos. Por un lado, existen estudios en los cuales se identifican el/los genes más próximo a un lado y otro del marcador o se establecen ventanas de búsqueda de un tamaño arbitrario, normalmente 1 Mb.

El objetivo de este trabajo es validar QTLs para GIM encontrados en distintas poblaciones de vacuno de carne en la raza Avileña-Negra Ibérica a partir de los marcadores SNPs contenidos en dichas regiones. Para ello se utilizarán medidas de GIM, determinadas en los músculos *Psoas major* (PM) y *Flexor digitorum* (FD) en terneros de raza ANI.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente estudio se partió de 397 animales machos de raza ANI cebados bajo condiciones comerciales, para los que se obtuvo la medida de el contenido GIM estimada con un equipo Infratec 1265 Meat Analyser, para los dos músculos de estudio. Los 397 animales se genotiparon con el chip Beadchip BovineSNP50 de Illumina. La información de los QTLs previamente descritos se obtuvo de la plataforma Animal Genome, de la cual se extrajeron un total de 83 QTLs para el carácter GIM con un tamaño medio de 1,86 Megabases (Mb) y desviación estándar de 6,69 Mb, estando comprendidos en las regiones QTLs un total de 2482 SNPs del chip.

Para el análisis de asociación se usó el software QXpak 5.05 (Pérez-Enciso y Misztal, 2004 y 2011). El modelo utilizado para describir la asociación entre las medidas fenotípicas y el genotipo de cada SNP fue el siguiente:

$$y_{ijklm} = \text{CebAño}_i + \text{DíasCeb}_j + \text{EdadSac}_k + \text{EpSac}_l + \text{SNP}_m + a_n + e_{ijklmn}$$

donde CebAño= Cebadero-Año, DíasCeb=Duración del periodo de cebo, EdadSac=Edad al sacrificio, EpSac=Época de sacrificio, SNP=genotipo SNP, a=efecto poligénico, e=residuo. El efecto poligénico se introdujo a través de la matriz de parentesco genómico obtenida con

el software Plink v1.07 (Purcell et al., 2007) a partir de todos los marcadores del chip, una vez estos fueron filtrados.

Tras los análisis, para la selección de los SNPs asociados a GIM se estableció un umbral de 0,1 para la tasa de falso positivos (FDR) definida como $FDR=(n*p)/k$, donde n es el número total de SNPs incluidos en el análisis, p es el umbral del p-valor y k es el número de SNPs seleccionados dado el umbral establecido, de forma que se seleccionaron aquellos k SNPs que cumplieran con la condición de $FDR < 0,1$. Se construyeron ventanas de desequilibrio de ligamiento (LD) alrededor de cada uno de los n SNPs, estableciéndose un valor de $LD=0,20$ para acotar dichas ventanas de búsqueda y se calculó cuanto representaban dichas ventanas en relación al tamaño del QTL original. Para el caso donde el QTL estuviera descrito por un SNP se determinó la ventana de búsqueda atendiendo al patrón de LD existente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los estudios de asociación resultaron en distinto número de SNPs asociados significativamente con los caracteres estudiados. Para el músculo FD se seleccionaron 147 SNPs con p-valor umbral de $5,9*10^{-3}$, y un FDR de 0,099 y para el PM 18 SNPs con p-valor umbral de $7,3*10^{-3}$ y un FDR de 0,10, distribuidos en 10 cromosomas según se refleja en la Tabla 1. Sobre estos SNPs se construyeron las ventanas de desequilibrio de ligamiento, 148 SNPs hicieron ventanas de LD, 133 para FD y 15 para PM, para los 17 SNPs restantes se establecieron ventanas de 1Mb.

Finalmente, 158 SNPs se localizaron en un total de 8 QTLs de los 83 inicialmente relacionados con los caracteres GIM como aparece en la Tabla 2, estando 4 de ellos contenidos en los dos QTLs asociados a GIM en FD del cromosoma 19. Cuatro de los SNPs de los QTLs descritos en GIM se validaron por la asociación de SNPs significativos para los dos músculos, FD y PM. La variación media del tamaño de los QTLs validados fue muy heterogénea, como aparece en la Tabla 2, así para los QTLs de los cromosomas 1,5 y 19 se redujo en un rango del 9,6 al 94,5% de su tamaño, mientras que para los otros restantes se incrementó entre un 15,0 y un 201,1%.

Paralelamente nueve SNP se validaron por su asociación con el carácter en el FD, como se refleja en la Tabla 3, ya que aparecieron descritos previamente en Animal Genome de forma de SNP asociado, estando uno de ellos descrito también en un QTL asociado a GIM en FD del cromosoma 5.

Así con esta validación y acotación, se han redefinido 8 QTLs asociados al contenido en GIM para los músculos FD y PM de la raza Avileña-Negra Ibérica y validado 9 SNPs.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hocquette, J.F., Gondret, F., Baeza, E., Medale, F., Jurie, C. & Pethick, E.W. 2010. *Animal* 4(2): 303-319.
- Marshall, D.M. 1999. *The genetics of cattle*, CAB International, Wallingford, UK, 605-636.
- Martín-Collado, D., González, M. & C. Díaz. 2012. *RCCV* 6(1): 45-49.
- Pérez-Enciso, M. & Misztal, I. 2004. *Bioinformatics* 20: 2792-2798.
- Pérez-Enciso, M. & Misztal, I. 2011. *BMC Bioinformatics* 12:202.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P.I.W., Daly, M.J. & Sham, P.C. 2007. *American Journal of Human Genetics* 81:559-575.

Agradecimientos: Los autores agradecen su contribución en la toma de muestras a AECRANI y al Consejo Regulador de la IGP "Carne de Ávila".

Tabla 1. Relación de número de SNPs al carácter grasa intramuscular (GIM) para cada uno de los dos músculos *Flexor digitorum* (FD) y *Psoas major* (PM).

Nº SNPs	Músculo	Cromosoma									
		1	3	4	5	14	16	18	19	22	26
	FD	33	1	1	50	2	2	1	37	14	6
	PM	3			12				1	1	1

Tabla 2. Relación de QTLs previamente descritos para grasa intramuscular (GIM), que incluían SNPs significativamente asociados al carácter grasa intramuscular (GIM), en los músculos *Flexor digitorum* (FD) y *Psoas major* (PM).

Cromosoma	NºSNP	Músculo	Nº de QTL	Tamaño medio QTL (Mb)	Tamaño medio de la ventana de LD (Mb)	Cambio tamaño QTL (%) ¹
1	33	FD	1	26,4	15,6	-40,7
	3	PM				
5	27	FD	2	42,9	49,4	15,0
	3	PM				
	23	FD		28,5	25,8	-9,6
	9	PM				
19	12	FD	2	7,5	17,4	43,6
	29			18,2		
	1	PM		18,2		
22	14	FD	1	15,2	16,2	6,3
	1	PM				
26	6	FD	1	5,2	15,5	201,1
	1	PM				

FD: *Flexor digitorum*, PM: *Psoas major*, Nº: Nº de QTL, Mb: Mega bases, LD: Desequilibrio de ligamiento, ¹ % de cambio de tamaño del QTL medido como el incremento del tamaño de la ventana (Tamaño Ventana-Tamaño QTL)/Tamaño QTL .

Tabla 3. Relación de SNPs validados por su asociación para el carácter grasa intramuscular (GIM) en el músculo *Flexor digitorum* (FD).

Cromosoma	3	4	5	14	16	18
NºSNP	1	2	1	2	1	1
SNP validados	1	2	1	2	2	1

VALIDATION OF QTLs ASSOCIATED TO INTRAMUSCULAR FAT IN AVILEÑA-NEGRA IBÉRICA BREED

ABSTRACT: This study aimed was validated QTLs associated with intramuscular fat (IMF) in two muscles, *Psoas major* (PM) and *Flexor digitorum* (FD), in the local breed cattle Avileña-Negra Ibérica. (ANI). The QTLs were previously described in others breeds, and they were download from Animal Genome site. The IMF measures came from 397 ANI calves, which were also genotyped with the Illumina Bovine SNP50 chip. A total of 2482 SNPs were contained in the 84 IMF QTLs regions, and a genome wide association (GWAS) was carried out with the QXpak v.5.05 software. After the GWAS, relevant SNPs were selected if the false discovery rate (FDR) was less than or equal to 0.10, and after that were built a linkage disequilibrium windows of theses SNPs. Overall, 8 QTLs described in IMF for ANI breed and 9 SNPs validated.

Keywords: Intramuscular fat, SNP, QTL, Genome Selection.