



MASTER INTERUNIVERSITARIO EN MEJORA GENÉTICA ANIMAL Y
BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

“Análisis genómico de la calidad de la carne y del metabolismo de los ácidos grasos en porcino”

Tesis de Máster
Barcelona, Julio 2016

Juan Eduardo Sambache Tayupanta

Director:

Dr. Josep M. Folch Albareda



Dr. **Josep M. Folch Albareda**, profesor titular del Departament de Ciència Animal i dels Aliments de la Universitat Autònoma de Barcelona e investigador del CRAG (*Centre for Research in Agricultural Genomics*)

CERTIFICA:

Que **Juan Eduardo Sambache Tayupanta**, ha realizado bajo su supervisión el trabajo de investigación titulado "Análisis genómico de la calidad de la carne y del metabolismo de los ácidos grasos en porcino" para la obtención de la Tesis de Máster del Máster en Mejora Genética y Biotecnología de la Reproducción (Universitat Autònoma de Barcelona; Universitat Politècnica de València).

Que este trabajo se ha realizado en el CRAG (*Centre for Research in Agricultural Genomics*).

Bellaterra, 20 de Junio de 2016



Dr. Josep M. Folch Albareda

“Miles fueron los kilómetros recorridos, el camino ha sido largo, en varias ocasiones difícil, he tropezado pero he tenido el valor de levantarme día a día y así llegar a finalizar esta experiencia enriquecedora”.

Agradecimientos

A través de estas líneas quiero expresar mi profundo agradecimiento y admiración a quienes hicieron posible la finalización del presente trabajo de investigación.

En primer lugar, mi más sincero agradecimiento a mi director de tesis, el Dr. Josep María Folch Albareda por brindarme la oportunidad de participar en su grupo de investigación, por sus conocimientos, experiencia, paciencia, profesionalismo, exigencia y dedicación hacia mi persona que han sido determinantes para la finalización de mi tesis de máster.

Al “*Centre de Recerca en Agrigènómica*”. Admiro el profesionalismo y la dinámica del grupo IBMAP del cual me siento parte. Quiero agradecer de manera especial a Manuel Revilla Sanchez, quien se convirtió en mi mentor desde el primer día, sus conocimientos, paciencia, guía, ayuda y tiempo hicieron posible esta investigación. A Daniel Crespo por su buena predisposición, su personalidad gentil y amable al prestarme su ayuda y atención en todo momento. A Lourdes Criado por trasmitirme sus conocimientos y guía en el laboratorio. A mis compañeros de despacho Odei, Anna, Betlem, que en medio de tanto trabajo, siempre hubo tiempo para compartir ideas, ayuda y momentos gratos de compañerismo.

También quiero agradecer a mis compañeros de máster: Bolívar, Katy, Jesús, Sandra y William por el apoyo que nos brindamos y por compartir un año difícil pero lo logramos!!

Sin duda, han sido dos años de enseñanza y aprendizaje continuo que me han permitido crecer como persona, como profesional y como ser humano. Agradezco esta experiencia y me llevo el haber compartido con gente de diferentes países y culturas.

Que bendición tener el amor de mi familia, sin ellos hubiese sido imposible esta experiencia. A mi padre Juan Sambache, su tolerancia, paciencia y apoyo incondicional me permitieron continuar con mis estudios. A mi madre Rosita Tayupanta, sus consejos, ánimos y cuidados fue la fortaleza que siempre me sostuvo. A mis hermanos: Jessica, Martha y José Rafael, su amor y acompañamiento fueron los que inspiraron para alcanzar mi propósito. Fue difícil separarnos pero siempre me apoyaron desde la

nostalgia y con la fe puesta en Dios y la virgen Maria, sus bendiciones me permitió alcanzar esta meta.

Ecuador, mi país, mi tierra, lleno de gente amable y emprendedora, de gente buena y solidaria, nunca me sentí tan ecuatoriano, cuando en tierras tan lejanas escuche que me identificaban con el nombre de Ecuador. Mi país, mi fortaleza, mi seguridad y la verdad de mis anhelos. Haber llegado hasta aquí y compartir con tantos compatriotas que persiguen similares objetivos, me confirmó que los ecuatorianos no tenemos limites para superarnos como país y por ello hoy somos el ejemplo de que cuando en el Ecuador decimos que “*si se puede*” deja de ser un eslogan para convertirse en una verdadera realidad.

Eduardo

LISTA DE ABREVIATURAS

AG	Ácidos grasos
PUFA	Ácidos grasos poliinsaturados (<i>Polyunsaturated Fatty Acids</i>)
MUFA	Ácidos grasos monoinsaturados (<i>Monounsaturated Fatty Acid</i>)
SFA	Ácidos grasos saturados (<i>Saturated Fatty Acid</i>)
PSE	Carnes pálidas, blandas y exudativas (<i>Pale, Soft, Exudative</i>)
LD	<i>Longissimus dorsi</i>
BF	Grasa dorsal
QTL	<i>Loci</i> de caracteres cuantitativos (<i>Quantitative Trait Loci</i>)
GIM	Grasa intramuscular
SSC	Cromosoma de la especie porcina (<i>Sus Scrofa Chromosome</i>)
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido (<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>)
GWAS	Estudios de asociación del genoma completo (<i>Genome-wide association study</i>)
pb	Pares de base (<i>base pairs</i>)
C14:0	Ácido mirístico
C16:0	Ácido palmítico
C16:1	Ácido palmitoleico
C18:0	Ácido esteárico
C18:1n9	Ácido oleico
C18:2n6	Ácido linoleico
C18:3n3	Ácido alfa linolénico

C20:1	Ácido eicosenoico
C20:2	Ácido eicosadienoico
C20:4	Ácido eicosatetraenoico

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
SUMMARY	3
1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1 SECTOR PORCINO	7
1.2. MEJORA GENÉTICA EN LA INDUSTRIA PORCINA	8
1.3 RAZAS PORCINAS.....	10
1.4 CALIDAD DE LA CARNE	12
1.4.1 IMPORTANCIA DE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS Y SU EFECTO SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE	13
1.5 GENÉTICA MOLECULAR Y SU PARTICIPACIÓN EN LA MEJORA GENÉTICA DEL PORCINO	15
1.5.1 MARCADORES MOLECULARES.....	15
1.5.1.1 MICROSATÉLITES.....	16
1.5.1.2 <i>SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM</i>	17
1.5.2 SECUENCIACIÓN DEL GENOMA PORCINO	18
1.5.3 IDENTIFICACIÓN DE QTLs EN ESPECIES DOMESTICAS	19
1.6 <i>GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY</i>	22
1.6 GENES CANDIDATOS.....	24
1.6.1 GEN <i>PORCINE INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR 2</i>	24
1.6.2 GEN <i>PYRUVATE DEHYDROGENASE COMPLEX, COMPONENT X</i>	25
1.6.3 GEN <i>PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR GAMMA COACTIVATOR 1-ALPHA</i>	26
1.6.4 GEN <i>PHOSPHOLIPASE A2 GROUP X1IA</i>	26
1.6.5 GEN <i>SET DOMAIN CONTAINING (LYSINE METHYLTRANSFERASE)</i>	27
2. OBJETIVOS.....	28
3.- MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1 MATERIAL ANIMAL.....	33
3.2 DATOS FENOTÍPICOS	36
3.3 DATOS GENOTÍPICOS	38
3.4 ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA	40
3.5 MODELO ESTADÍSTICO	40

4. RESULTADOS.....	42
4.1 ESTUDIO DE ASOCIACIÓN GENÓMICO	44
4.1.1 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN GENÓMICO PARA CARACTERES RELACIONADOS CON LA CALIDAD DE LA CANAL Y EL CRECIMIENTO.....	44
4.1.2 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN GENÓMICO PARA CARACTERES RELACIONADOS CON LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN <i>LONGISSIMUS DORSI</i>	45
4.1.3 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN GENÓMICO PARA CARACTERES RELACIONADOS CON LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN GRASA DORSAL	49
4.2 ESTUDIO DE 5 GENES CANDIDATOS DE LOS CROMOSOMAS SSC2 Y SSC8 EN TRES POBLACIONES DIFERENTES.....	52
4.2.1 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE SNPs LOCALIZADOS EN GENES CANDIDATOS CON CARACTERES DE CRECIMIENTO Y CALIDAD DE LA CANAL	54
4.2.2 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE SNPs LOCALIZADOS EN GENES CANDIDATOS CON CARACTERES DE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN <i>LONGISSIMUS DORSI</i>	54
4.2.3 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE GENES CANDIDATOS CON CARACTERES DE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS MEDIDOS EN GRASA DORSAL.....	55
4.3 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE GENES CANDIDATOS CON CARACTERES RELACIONADOS CON EL CRECIMIENTO, LA CALIDAD DE LA CANAL Y LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN CADA RETROCRUCE	56
4.3.1 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE 5 GENES CON CARACTERES RELACIONADOS CON EL CRECIMIENTO, LA CALIDAD DE LA CANAL Y LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN EL RETROCRUCE LANDRACE... 56	
4.3.2 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE GENES CANDIDATOS CON CARACTERES RELACIONADOS CON EL CRECIMIENTO, LA CALIDAD DE LA CANAL Y LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN EL RETROCRUCE DUROC	58
4.3.3 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE GENES CANDIDATOS CON CARACTERES RELACIONADOS CON EL CRECIMIENTO, LA CALIDAD DE LA CANAL Y LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN EL RETROCRUCE PIETRAIN.....	60
4.4 ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE 5 GENES CANDIDATOS EN MÚSCULO.....	62
4.4.1 ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DEL GEN <i>IGF2</i> UTILIZANDO UN MODELO CON <i>IMPRINTING</i>	63
5. DISCUSIÓN.....	66
5.1 CONCORDANCIA POSICIONAL CON OTROS ESTUDIOS DE IDENTIFICACIÓN DE QTLs Y GWAS REALIZADOS EN PORCINO.....	68
5.2 EFECTO DE LOS 5 SNPs SOBRE CARACTERES DE INTERÉS ECONÓMICO.....	70
6. CONCLUSIONES	75
7. ANEXOS.....	78
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85

Resumen

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 económico como el crecimiento y la deposición grasa. El *Porcine SNP60 BeadChip* (Illumina, Santa Clara, CA, EUA) ha constituido una valiosa herramienta que ha permitido incrementar el número y densidad de marcadores para evaluar la asociación entre el genotipo de *SNPs* y los fenotipos de caracteres productivos.

El objetivo principal del presente trabajo fue estudiar mediante una aproximación *GWAS* utilizando el *Qxpak 5,0* la arquitectura genética de los caracteres relacionados con el crecimiento, calidad de la canal y la composición de ácidos grasos medidos en grasa intramuscular (LD) y grasa dorsal (BF) en un retrocruce (25% Ibérico 75% Landrace) con los genotipos del *Porcine SNP60 BeadChip* (Illumina, Santa Clara, CA, EUA). El análisis de asociación permitió identificar *SNPs* en regiones de los cromosomas *SSC1* y *SSC17* asociados significativamente al carácter longitud de la canal, también *SNPs* del cromosoma *SSC6* mostraron asociación significativa con el carácter *pH 45 minutes post mortem mesuare in Longissimus dorsi* (pH45LD). Se analizaron también los caracteres para la composición de ácidos grasos medios en LD y BF, donde se confirmaron regiones genómicas asociados a estos caracteres que fueron descritas previamente, pero también se identificaron nuevas regiones genómicas asociadas significativamente a la composición de los ácidos grasos: Mirístico, palmítico, palmitoleico, oleico y linoleico. Así también, el ratio de ácidos grasos omega6 omega3 mostró asociación significativa en la región del cromosoma *SSC18*.

Se estudiaron 5 polimorfismos de los genes (*IGF2*, *PDHX*, *PPARGC1A*, *PLA2G12A* y *SETD7*) que se encuentran en los cromosomas *SSC2* y *SSC8* como candidatos posicionales en un grupo experimental de 448 animales que pertenecen a tres poblaciones diferentes: retrocruce Landrace (25% Ibérico 75% Landrace), retrocruce Duroc (25% Ibérico 75% Duroc) y retrocruce Pietrain (25% Ibérico 75% Pietrain). En el *GWAS* para los caracteres de crecimiento, calidad de la canal y composición de ácidos grasos medidos en LD y BF se observó que el *SNP* del gen *PPARGC1A* no presenta ninguna asociación significativa para los caracteres analizados. Los *SNPs* de los genes

PDHX y *PLA2G12A* muestran asociación significativa para algunos caracteres de la composición de ácidos grasos en LD y BF. En el SNP del gen *SETD7* se observó asociación significativa con el ácido palmítico y palmitoleico. Por último, en la sustitución en el *intron3-G3072A* del gen *IGF2* se observó que este polimorfismo tiene un efecto importante en los caracteres de peso de la canal (CW), peso de las chuletas (BELLYWT), peso de ambos jamones (HAMWT) y al peso a los 125 días (BW125), en tanto para los caracteres de ácidos grasos se observó una fuerte asociación significativa en BF para los ácidos palmítico (C16:0), oleico (C18:1n9), linoleico (C18:2n6), α linolénico (C18:3n3), SFA, MUFA y PUFA. En LD se observó asociación significativa con los ácidos palmítico (C16:0) y palmitoleico (C16:1n7).

Finalmente, se realizó un análisis de expresión génica para los 5 genes mediante PCR a tiempo real en tejido muscular. Sin embargo, únicamente se observó asociación significativa entre los genes *IGF2* y *SETD7* y los SNPs los genes *IGF2* y *SETD7*. Si se tiene en cuenta que estos polimorfismos también presentan asociaciones significativas sobre algunos caracteres de crecimiento, calidad de la canal y la composición de ácidos grasos, estos resultados sugieren que estos polimorfismos podrían ser los responsables de las diferencias fenotípicas observadas.

SUMMARY

Since the advent of genomics in the decade of the 90's an important goal of animal genetics has been deciphering the molecular basis of economic traits such as growth and fat deposition. The *Porcine SNP60 BeadChip* (Illumina, Santa Clara, CA, USA) has been a valuable tool that has helped increase the number and density of markers to evaluate the association between genotype of SNPs and phenotypes of productive characters.

The main objective of this work was to study by a GWAS approach using the 5.0 Qxpak the genetic architecture of traits related to growth, carcass quality and fatty acid composition measured in intramuscular fat (LD) and backfat (BF) in a backcross (25% Iberian 75% Landrace) with genotypes *Porcine SNP60 BeadChip* (Illumina, Santa Clara, CA, USA). An Association analysis identified SNPs in regions of chromosomes SSC17 and SSC1 significantly associated to the carcass length trait. Also in chromosome SSC6 SNPs showed significant association with pH45 minutes post mortem measure in *Longissimus dorsi* (pH45LD). Were also analyzed traits for composition of fatty acids in LD and BF, where genomic regions associated with these trait were previously described, but new genomic regions associated significantly to trait of composition of the fatty acids were also identified in the composition of fatty acids: Myristic, palmitic, palmitoleic, oleic and linoleic. Also, the ratio of omega-6 omega3 showed significant association in the region of chromosome SSC18.

Were studied 5 gene polymorphisms (*IGF2*, *PDHX*, *PPARGC1A*, *PLA2G12A* and *SETD7*) found in SSC2 and SSC8 chromosomes as positional candidates in an experimental group of 448 animals belonging to three different populations: backcross Landrace (25% Iberian 75% Landrace), backcross Duroc (25% Iberian 75% Duroc) and backcross Pietrain (25% Iberian 75% Pietrain). A GWAS for growth traits, carcass quality and fatty acid composition measured in LD and BF was observed that *PPARGC1A* gene SNP has no significant association for traits analyzed. The SNPs of *PDHX* and *PLA2G12A* genes show significant association for some traits of the fatty acids composition in LD and BF. Polymorphism of *SETD7* gene was observed significant association with palmitic and palmitoleic acid. Besides, *intron3-G3072A* in *IGF2* gene polymorphism was observed had a significant effect on the trait of carcass

weight (CW), weight chops (BELLYWT), weight of both hams (HAMWT) oleic (C18: 1n9), linoleic (C18: 2n6) and weight to 125 days (BW125), while for fatty acids traits a strong significant association was observed in BF for palmitic (C16:0), α linolenic acid (C18: 3n3), SFA, MUFA and PUFA. In LD was observed significant association with palmitic (C16:0) and palmitoleic (C16: 1n7).

Finally, an analysis of gene expression for 5 genes was performed using real-time PCR in muscle tissue. However, only significant association was observed between genes *SETD7* and *IGF2* and SNPs of genes *SETD7* and *IGF2*. If one considers that these polymorphisms show significant associations on some growth traits, carcass quality and fatty acid composition, these results suggest that these polymorphisms may be responsible for the observed phenotypic differences.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Sector porcino

En la actualidad China, la unión Europea y Estados Unidos son quienes lideran la industria porcina en el mundo. Concretamente, España ostenta el cuarto puesto a nivel mundial en producción de carne de cerdo, que junto con Alemania destacan como principales productores dentro del marco comunitario europeo. Además, la Unión Europea es considerada como el principal exportador de carne porcina a nivel mundial siendo los principales clientes países como China y Japón (Ministerio de Agricultura alimentación y medio ambiente 2014).

En el ámbito nacional, el sector porcino es el primero en importancia económica y representa el 34,2% dentro de las producciones ganaderas. (Ministerio de agricultura alimentación y medio ambiente 2014). Según la Asociación Nacional de Industrias de Carne de España (Anice), en el 2014 la producción nacional de carne de porcino alcanzó el 61.2% de la producción total registrando una evolución positiva del 4% con respecto al año 2013. En contraste, los sectores productores de carne de vacuno, ovino y caprino registraron descensos entre el 1%, el 6% y el 5%, respectivamente (Ministerio de Agricultura alimentación y medio ambiente 2014).

Con referencia a la producción de las comunidades autónomas, Cataluña encabeza la lista como el principal productor y abarca la mayor parte de la producción nacional, seguida de Castilla y León y Aragón, como se muestra en la Figura 1.

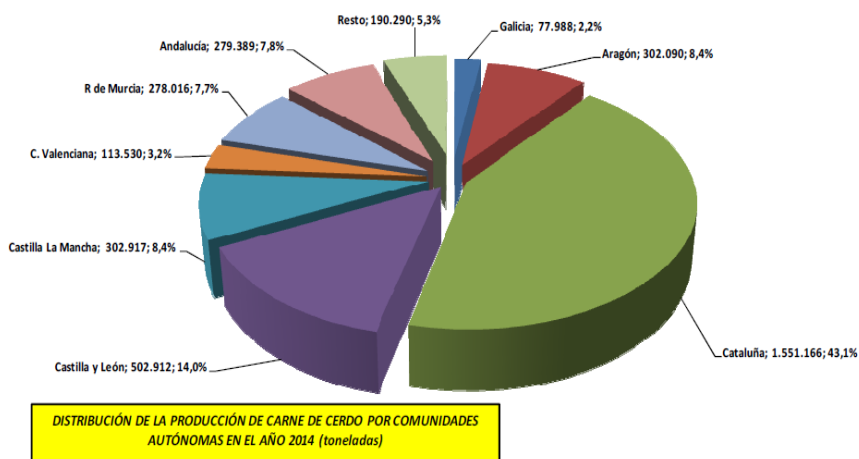


Figura: 1 Distribución de la producción de carne de cerdo por comunidades Autónomas (Ministerio de Agricultura alimentación y medio ambiente 2014)

El avance de la industria porcina en las últimas décadas produjo la introducción de razas especializadas para el cebo intensivo, técnicas para el manejo adecuado de la nutrición y el control sobre la reproducción. La finalidad es producir carne de óptima calidad y manteniendo al mismo tiempo buenas tasas de conversión y de conformación para obtener rendimiento de canales ideales. Para cumplir con los objetivos de su explotación, dentro de un margen que sea rentable y competitivo, es necesario disponer de animales con genética de calidad.

1.2. Mejora genética en la industria porcina

A partir de la domesticación de las especies animales que tuvieron interés productivo para la especie humana y basándose en su morfología, producción o estética, se empezó a elegir animales a los cuales se les permitía reproducirse, iniciando inconscientemente la selección animal y priorizando ciertas combinaciones genéticas.

En la actualidad, las exigencias del consumidor y su preocupación por el impacto ambiental, ausencia de antibióticos en la carne, bienestar animal y su rechazo al aumento de los precios de los alimentos, obliga a la optimización técnica y económica de los programas de mejora genética del porcino.

Hoy en día, los conocimientos científicos en el campo de la fisiología, reproducción y genética, permiten la aplicación de estrategias de selección más eficientes. Muestra de ello es la mejora genética del ganado porcino que se basa en la

selección de reproductores y posterior cruzamiento para así aprovechar la variabilidad que existe entre y dentro de las distintas razas o líneas (Varona, 2008).

Las estrategias de la mejora genética que se tiene en cuenta en la industria porcina son la selección y los cruzamientos, permitiendo de este último aprovechar los fenómenos de complementariedad y heterosis.

El diseño de la estructura de selección y difusión genética consiste en una organización piramidal compuesta por 3 niveles (Figura 2) donde pueden intervenir de 2 a 4 razas o líneas diferentes. En el nivel 1) se dedica a la producción de reproductores (núcleos de selección) donde se genera el progreso genético, 2) la producción de lechones destetados (granjas de multiplicación) donde se disemina el progreso genético y 3) el engorde de animales (granjas de producción y engorde) donde se utiliza el progreso genético (Tibau, 2004).

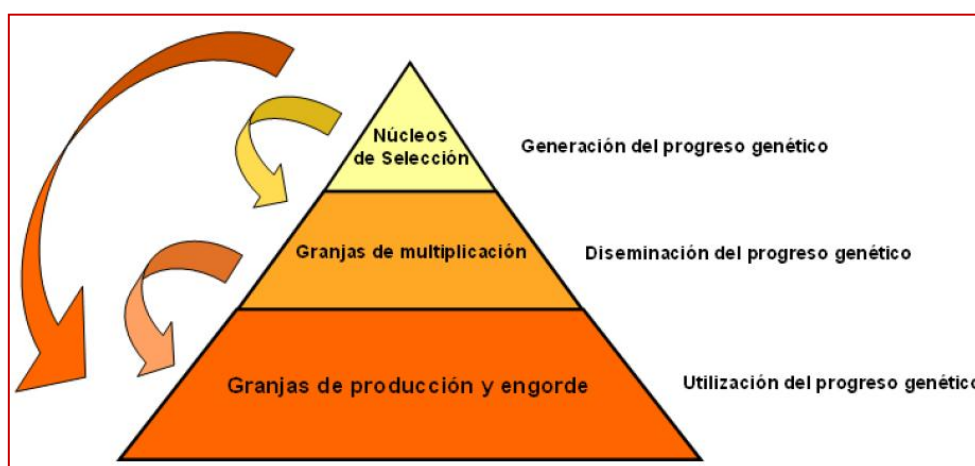


Figura 2: Estructura de la difusión del progreso genético adaptada de Tibau, 2004.

En un esquema tradicional de selección en mejora genética porcina, el macho se selecciona teniendo en cuenta los caracteres de crecimiento (aumento del peso a edad de sacrificio y porcentaje de carne magra), mientras que las hembras se seleccionan en base a los caracteres reproductivos (nacidos vivos y tamaño de camada). (Blasco *et al.*, 1994).

Los objetivos de selección deberán ser económicamente importantes y fáciles de medir (Tibau, 2005). El éxito del programa de mejora se refleja en el progreso genético

que se obtenga y que depende de la heredabilidad del carácter, de la variabilidad del mismo en la población y de la intensidad de selección aplicada. Además,

Tabla 1: Variabilidad, heredabilidad y efecto de heterosis en caracteres de interés en el porcino adaptado de (Tibau, 2005)

Carácter	Unidades	Desviación típica fenotípica	Heredabilidad	Heterosis (directa)
Prolificidad	n	4	0,1	10%
Crecimiento	g/día	80	0,3	5%
Índices de conversión	Kg/Kg	0,25	0,3	4%
Porcentaje de magro	%	3	0,6	0%
Grasa intramuscular	%	1	0,5	0%
pH de la carne	Unidades	1	0,3	0%

Cabe recalcar que en el ganado porcino, los caracteres de interés económico son múltiples, complejos y variables como por ejemplo: crecimiento, calidad de canal, calidad de carne, capacidad reproductiva y en ocasiones están correlacionados negativamente (Tibau, 2005) un ejemplo de ello, es la calidad de la canal que puede afectar negativamente a los caracteres de calidad de la carne o a los reproductivos.

En las últimas décadas las estrategias de mejora genética, se han enfocado hacia la producción de animales con una elevada capacidad de conversión alimenticia, es decir, una transformación rápida del pienso consumido en carne magra. Caracteres como calidad de la carne y de la grasa son objetivos fundamentales y que han estado presentes en los programas de mejora, con el objetivo de reducir el contenido de grasa en la canal. Lo que ha ocasionado una reducción no deseada del contenido de grasa intramuscular, que afecta negativamente a características como la ternura de la carne y la jugosidad (Cameron, 1990). Además, la grasa intramuscular origina que la carne sea más apetecible, de buen sabor y que se adapte a los diferentes tipos de manipulación y cocción. Pero la calidad de la carne es un carácter que depende de varios factores como el pH post-mortem, la composición de ácidos grasos, la capacidad de retención de agua, así como de la estructura histoquímica de las fibras musculares (Cameron *et al.*, 2000)

1.3 Razas porcinas

Se han realizado diversos estudios comparativos sobre la influencia de las diferentes razas de cerdos y su relación con la calidad de la carne. La gran variedad de

razas porcinas que existen se pueden agrupar bajo la denominación de cerdos magros y cerdos grasos, que de acuerdo a las características que presenten son utilizadas en los esquemas de selección. Algunas de las razas importantes utilizadas en el presente trabajo son:

- Landrace: se caracteriza por su prolificidad, fertilidad y gran aptitud maternal (carácter tranquilo, cuidado de las crías, capacidad lechera, etc) y en los programas de mejora es utilizada como línea materna. Presenta una buena ganancia media diaria en peso y conversión alimenticia, con bajo nivel de engrasamiento, considerándose por ello una raza de tipo magro. Empleada en la industria cárnica por su buen rendimiento de la canal, por su producción de jamones bien conformados y la calidad de su carne.
- Pietrain: es una raza con mayor porcentaje de músculo, siendo utilizada en la mayoría de los cruzamientos de líneas paternas. Sin embargo, los animales de esta raza no presentan buenos parámetros de crecimiento, además que presentan una baja prolificidad y frecuentemente sufren el síndrome PSE (carnes pálidas, blandas y exudativas). Por lo que su producción está orientada a productos frescos y presentan canales con rendimientos que varían entre 72% y 75%.
- Duroc: posee unas buenas características de resistencia ya que esta raza presenta gran rusticidad y una buena adaptabilidad a los climas cálidos. Respecto a su nivel productivo, destaca por proporcionar calidad a la carne, incrementando la grasa infiltrada en los productos obtenidos en animales cruzados. Es una raza que también sobresale por su elevada prolificidad, siendo utilizada como línea paterna y línea materna en los programas de cruzamientos.
- Ibérico: Es una raza particularmente explotada en España. Que destaca por su excelente calidad de carne, caracterizada por poseer un mayor contenido de grasa intramuscular en comparación con las razas de cerdo blanco, son animales adipogénicos cuyas características genéticas le confieren una tendencia al almacenamiento de grandes depósitos de lípidos, los cuales, se infiltran en las masas musculares, lo que origina a su carne una textura, untuosidad y aroma

únicos de esta raza. Además, presenta índices de conversión más elevados que los observados en las razas de cerdo blanco.

En este contexto, las razas juegan un papel muy importante dentro de la calidad de la carne, ya que el tejido graso influye directamente en la composición del tejido muscular (Knapp, *et al.*, 1997), lo cual proporciona a la carne sus características organolépticas.

1.4 Calidad de la carne

Postular una definición de calidad de la carne en la industria porcina, no resulta sencillo, ya que la calidad de la carne es una combinación de medidas subjetivas y objetivas (AGPIC, 2009), que varía según el mercado al que se destine la producción de esta carne. Estas medidas, a su vez están influenciadas por distintos factores como son: sistemas de producción, genética, grupo racial, alimentación y manejo pre-morten y post-morten de la carne.

Propiedades fisicoquímicas y microbiológicas son consideradas características objetivas, que junto, a las características subjetivas, que hace referencia a las propiedades organolépticas, son las que determinan la calidad de la carne (*Hernández et al.*, 2013). Las medidas más comunes usadas en la determinación de la calidad de la carne de cerdo son: color, pH, capacidad de retención de agua, grasa intramuscular, olor y textura. Pero la importancia de cada uno de estos parámetros suelen depender de si el destino final del producto elaborado es para consumo final o para la preparación de cocidos o curados (López-Bote, *et al.*, 1999).

Por lo expuesto anteriormente y si se tiene en cuenta el criterio del productor, de los fabricantes y del consumidor será aun mas difícil definir un concepto de “*calidad de carne*”; Para un productor, la carne ideal sería aquella que presente una canal con alto rendimiento, una buena conformación, abundantes masas musculares, que se encuentre poco engrasada y que la grasa sea firme y de color blanco. Pero también tendría en cuenta que la carne presente un color adecuado y que no pierda líquidos, con una consistencia ideal para que soporte la manipulación y los cortes como mencionan López-Bote *et al.*, (1999). Por su parte, las industrias que se dediquen al procesado de productos cárnicos valoraran positivamente que el producto presente un pH adecuado,

un elevado contenido de grasa intramuscular, una adecuada estabilidad oxidativa, ausencia de olor y sabores que no correspondan a los normales, un alto contenido de ácido oleico y que presente una buena consistencia. En tanto que el consumidor valora aspectos como el sabor, la jugosidad, el tiempo de conservación, evitando que generen olores y sabores desagradables que pudiera generar la carne, posterior a la conservación y la cocción. Además, el consumidor tiende a rechazar productos cárnicos con presencia de aditivos, contaminantes, grasas saturadas y colesterol.

En la actualidad, los productores y la industria trabajan en sintonía para ofrecer al consumidor un producto de calidad, aceptable y amigable con el ambiente. Sin embargo, en las últimas décadas, la calidad de la carne se vio afectada ya que la selección de algunas razas porcinas se realizaba a favor de canales más magras y un crecimiento acelerado del animal, lo que originó reducciones importantes del contenido de grasa intramuscular en la canal (GIM) y modificaciones en la composición de los ácidos grasos (AG) que afectan negativamente a las características organolépticas de la carne (Wood *et al.*, 2008). Se ha descrito (Knapp *et al.*, 1997) una relación negativa entre carne magra y calidad de carne.

1.4.1 Importancia de la composición de ácidos grasos y su efecto sobre la calidad de la carne

En los animales los depósitos lipídicos están formados principalmente por ácidos grasos, que pueden clasificarse en función del número de enlaces dobles que presentan:

- Ácidos grasos saturados (AGS)
- Ácidos grasos monoinsaturados (AGMI)
- Ácidos grasos polinsaturados (AGPI)

En porcino los ácidos grasos constituyen los diferentes depósitos de grasa de la canal como son: la grasa subcutánea, grasa intramuscular, grasa intermuscular, grasa abdominal y grasa perirenal.

Tabla 2: Nomenclatura de los Ácidos grasos más importantes (IUPAC, 2015)

Nombre común	Nombre sistemático	Fórmula química
Saturados		
Ácido Mirístico	tetradecanoico	C14:0
Ácido Palmítico	hexadecanoico	C16:0
Ácido Esteárico	octadecanoico	C18:0
Monoinsaturados		
Ácido Palmitoleico	hexadeca-9-enoico	C:16:1(n7)
Ácido Oleico	octadeca-9-enoico	C18:1(n9)
Ácido Vaccénico	octadeca-11-enoico	C18:1(n7)
Poliinsaturados		
Ácido Linoleico	octadeca-9,12-dienoico	C18:2(n6)
Ácido γ -Linolénico	octadeca-6,9,12-trienoico	C18:3(n6)
Ácido α -Linolénico	octadeca-9,12,15-trienoico	C18:3(n3)
Ácido Araquidónico	eicosa-5,8,11,14-tetraenoico	C20:4(n6)

Los ácidos grasos saturados (AGS) más comunes y con mayor efecto en la especie porcina sobre la calidad tecnológica de la carne son el ácido palmítico (C16:0), el ácido esteárico (C18:0) y el ácido mirístico (C14:0) cuya reducción, está asociado a problemas de manipulación, firmeza, gusto y el aroma de la carne. En tanto, los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) más importantes son el ácido oleico (18:1(n-9)), el ácido palmitoleico (C16:1(n-7)) y el ácido vaccénico (C18:1) e influyen en la correcta oxidación y maduración, ya que una oxidación excesiva provoca la aparición de olores y sabores anómalos y coloraciones amarillentas en la carne (López-Bote *et al.* 1999). Finalmente los ácidos grasos poliinsaturados, que influyen sobre la ternura y la jugosidad, son el ácido linoleico (C18:2(n6)), γ -Linolénico (C18:3(n6)), α -Linolénico (C18:3(n3)) y Araquidónico (C20:4(n6)).

En la comercialización de la carne fresca y procesada, la consistencia de la grasa tiene una gran importancia porque determina la apariencia y facilidad de manipulación (López-Bote *et al.*, 1999). Pero los problemas asociados a una deficiente consistencia de la grasa es aun más importante en las carnes que son destinadas a la elaboración de productos cárnicos crudos madurados.

El contenido graso repercute de manera importante en las propiedades tecnológicas de las carnes destinadas a la elaboración de los derivados, particularmente los curados, dado que tanto la grasa de cobertura, como las grasas intermuscular e

intramuscular determinan el grado de deshidratación y la velocidad de pérdida de agua que se producirá durante los distintos procesos a lo que somete a la carne.

Un nivel de engrasamiento elevado aportará mayor lentitud a la deshidratación, por lo que permitirá mantenerlos durante más tiempo, favoreciendo las reacciones bioquímicas que afectan a proteínas y lípidos, con la correspondiente formación de los compuestos responsables de varias propiedades sensoriales (Gil, 2010)

Investigaciones realizadas por Cameron *et al.*, (2000) sostienen que la composición de ácidos grasos determinan la firmeza y estabilidad oxidativa al tejido muscular, que a su vez afecta al sabor y el color de la carne, siendo la vitamina E un nutriente esencial que estabiliza a los ácidos grasos polinsaturados (AGPI) y que presentan un efecto positivo (10 y 20%) sobre la ternura y la jugosidad.

1.5 Genética molecular y su participación en la mejora genética del porcino

1.5.1 Marcadores moleculares

Un marcador genético es un segmento de ADN con una ubicación física identificable (*locus*) en un cromosoma y cuya herencia genética se puede rastrear. Un marcador puede ser un gen, o puede ser alguna sección del ADN sin función conocida. Dado que los segmentos del ADN que se encuentran contiguos en un cromosoma tienden a heredarse juntos, los marcadores se utilizan a menudo como formas indirectas de rastrear el patrón hereditario de un gen que todavía no ha sido identificado, pero cuya ubicación aproximada se conoce. Los marcadores se usan para el mapeo genético como el primer paso para encontrar la posición e identidad de un gen. Permiten evidenciar variaciones (polimorfismos) en la secuencia del ADN entre dos individuos, modifiquen éstas o no su fenotipo. Funcionan como señaladores de diferentes regiones del genoma.

Su utilización es fundamental para la construcción de mapas genómicos, para la detección de *loci* de caracteres cuantitativos (QTLs; *Quantitative Trait Loci*) y para la realización de estudios de asociación con caracteres fenotípicos de interés.

El disponer de marcadores ligados a aquellos genes involucrados en la variación de ciertas características seleccionadas (Stuber, 1995) permite en ganadería diferentes aplicaciones como son: identificación de paternidad, validación oportuna de defectos e identificación de caracteres de interés productivo o la identificación de enfermedades genéticas, entre otras (Laura *et al.*, 2004; Casas *et al.*, 2006).

1.5.1.1 Microsatélites

Las secuencias de tipo microsatélite (*SSR o STR, Simple Sequence Repeats o Short Tandem Repeats*), muy abundantes en los genomas de eucariotas y algunos procariontes, están constituidas por unidades cortas de 1 a 6 pares de bases, que se repiten en tándem un elevado número de veces. Cada secuencia SSR se define por el tipo de unidad repetida (lo más frecuente mono, di, tri o tetra, aunque también penta o hexa nucleótidos) y por el sitio que ocupan en el genoma (*locus*). Generalmente se encuentran en zonas no codificantes del ADN. Son neutros, co-dominantes y poseen una alta tasa de mutación, lo que los hace muy polimórficos. Son utilizados como marcadores moleculares en una gran variedad de aplicaciones en el campo de la genética como la genética forense, test de paternidad, análisis poblacionales, estudios de diversidad e identificación varietal, construcción de mapas genéticos y estudios de asociación.

Las ventajas que ofrecen los microsatélites se deben, en parte, al empleo de la PCR con cebadores específicos de cada *locus*, ya que el ADN que se utiliza no necesita ser de mucha calidad, e incluso ADN en estado avanzado de degradación es suficiente para ser analizado. Su naturaleza codominante, que permite la distinción de homocigotos y heterocigotos, su amplia distribución en el genoma, su reproducibilidad y su elevada variabilidad (multialélicos) los han convertido en uno de los sistemas de marcadores genéticos más informativos y empleados. A pesar de que los SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) están remplazando a los marcadores tipo microsatélite, estos siguen siendo marcadores muy empleados, especialmente en estudios con un menor número de individuos (Sirvent *et al.*, 2012)

1.5.1.2 *Single Nucleotide Polymorphism*

Conocido por sus siglas en inglés como SNP, este polimorfismo de un solo nucleótido es una variación en la secuencia de DNA que afecta a un sólo nucleótido. Son marcadores moleculares que se encuentran distribuidos ampliamente por todo el genoma siendo generalmente dialélicos (Brookes, 1999). Para ser considerado polimórfico la frecuencia del alelo minoritario debe ser de al menos el 1% de los alelos de la población. La frecuencia de SNPs en el genoma porcino es de aproximadamente uno por cada 1000 pares de bases (Pires *et al.*, 2005).

Se distribuyen ampliamente tanto en regiones codificantes como no codificantes (Sachidanandam *et al.*, 2001). Aunque la mayoría se localiza en las regiones no codificantes y normalmente no tienen un impacto directo en el fenotipo de un individuo y son utilizados como marcadores moleculares. No obstante, algunos introducen mutaciones en secuencias expresadas o en regiones que influyen en la expresión génica (promotores y potenciadores), y pueden inducir cambios en la estructura o regulación de las proteínas. Dichos SNPs tienen el potencial de detectar la variación genética funcional.

Los SNPs más importantes, desde el punto de vista biológico son los que están localizados en regiones codificantes que den lugar a cambios de aminoácidos no conservativos y que pueden afectar directamente a la estructura y función de las proteínas resultantes.

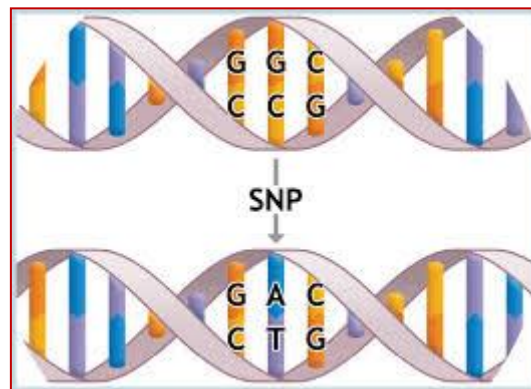


Figura 3: Single Nucleotide Polymorphism (Lavebratt *et al.*, 2006)

Los SNPs son los marcadores utilizados actualmente en la selección genómica ya que genotipar SNPs permite estudiar la posible asociación de los mismos con los

caracteres de importancia económica (Moskvina *et al.*, 2008). También permiten estudios masivos, dado que pueden ser automatizados vía plataformas de genotipado de alto rendimiento.

Uno de los avances más importantes relacionados con los SNPs en cerdos ha sido la creación de los chips de SNPs de alta densidad (Chip de 60K SNPs porcino; Ramos *et al.*, 2009), que permiten la posibilidad de realizar genotipado de alta densidad.

Illumina (<https://www.illumina.com>) es una compañía que ha desarrollado plataformas de genotipado de alta densidad (chips de SNPs) para varias especies domésticas, como el caballo, cabra, cerdo, bovino, perro, entre otros. En particular, en cerdos, desarrollaron el *Illumina PorcineSNP60 BeadChip*, con un total de 64,232 SNPs que ha resultado fundamental para llevar a cabo los genotipados de alta densidad que requiere el análisis GWAS. La identificación de los SNPs incluidos en el chip se realizó mediante la secuenciación masiva de individuos pertenecientes a diversas razas porcinas (*Duroc, Pietrain, Large White y Landrace*), así como jabalíes europeos y japoneses.

En el año 2015, *Affymetrix* presentó el *Axiom® Porcine Genotyping Array*, una plataforma de genotipado de alta densidad disponible en un formato de *96-array* que incluye un total de 658.692 marcadores descubiertos de la secuencia del genoma completo de 210 animales que cubren una amplia gama de razas de cerdos comerciales y salvajes. Además dispone de 56,000 de los marcadores más informativos del *PorcineSNP60 BeadChip*. Esta matriz de alta densidad ofrece gran potencia y resolución para una amplia gama de aplicaciones como: la construcción de mapas genéticos de alta resolución, estudios de asociación entre marcadores y caracteres de interés, evaluación de líneas puras, la identificación de poblaciones y en análisis de barrido selectivo del genoma completo.

1.5.2 Secuenciación del genoma porcino

A partir de la obtención de la secuencia completa del genoma humano se despertó el interés en la genómica, que busca la caracterización molecular de los genomas completos. El genoma consiste en largas secuencias de ácidos nucleicos (cromosomas) siendo la fuente de la información hereditaria de cada organismo.

El interés biomédico y el interés agronómico e industrial que existe sobre la especie porcina, dieron lugar en septiembre del 2003 al establecimiento del “*Consortio Internacional de Secuenciación del Genoma Porcino*”, cuyo objetivo era establecer la secuencia completa del genoma del cerdo. El 15 de noviembre del 2013 se publicó en la revista *Nature* los resultados de un borrador de alta calidad del genoma de cerdo doméstico de la raza Duroc (*Sus scrofa domesticus*). Se trata de un trabajo que ha requerido la colaboración de un buen número de investigadores procedentes de múltiples centros de investigación y que pertenecen a 12 países diferentes

Esta secuencia (*Assembly Sscrofa 10.2*) ha sido obtenida por secuenciación de Sanger a partir de BACs (*Bacterial Artificial Chromosome*) y más recientemente, por secuenciación paralela masiva (*WGS, Whole Genome Sequencing*).

Los resultados del análisis de la secuencia publicados revelan que el tamaño total del genoma del cerdo es de 2,8 billones de pares de bases y contiene 21.640 genes codificadores de proteínas, 380 pseudogenes y 2.965 ncRNAs (RNAs no codificantes) en esta versión publicada, los investigadores han encontrado, además, 95 nuevas familias de secuencias no codificantes repetidas entre las que hay familias de elementos móviles tipo *LINE*, *SINE* y *LTRs*. Estos elementos constituyen un 40% del genoma porcino, siendo los *LINE1* y los *PRE* (un *SINE* específico de cerdos) los más abundantes (Groenen *et al.*, 2013)

1.5.3 Identificación de QTLs en especies domesticas

En las especies domesticas, la mayoría de los caracteres de importancia económica, son caracteres complejos que presentan una herencia multifactorial.

Un carácter cuantitativo es un carácter con una variación fenotípica medible debida a causas genéticas o ambientales. La variación puede ser discreta o continua (Wells, 2001). Algunos caracteres cuantitativos presentan un umbral. Estos caracteres generalmente son multifactoriales y se rigen por un modelo infinitesimal, es decir caracteres determinados por muchos genes (poligenes) cada uno con un efecto muy pequeño y aditivo.

Según Yague, (2008) para describir la base genética de los caracteres cuantitativos se debería considerar los efectos conjuntos de todos los genes causantes de la variación fenotípica para intentar describir su efecto sobre la variabilidad genética de los caracteres cuantitativos.

Un QTL se define como un *locus* cuya variación alélica está asociada con la variación de un carácter cuantitativo, esto es, con aquellos caracteres cuantificables que varían de forma continua. La contribución de cada QTL a un carácter puede ser muy diferente y depender del fondo genético, siendo frecuente la interacción entre QTLs

La localización de QTLs es una etapa fundamental para identificar mutaciones causales que pueden ser empleadas posteriormente como una fuente de información genética en los programas de selección, ya que se puede llevar a cabo el genotipado de individuos en las poblaciones de especies animales, entre los que se puede detectar a aquellos que son portadores de marcadores de interés para ser seleccionados y de esta manera desarrollar programas de mejora basados en las regiones QTLs, para caracteres económicamente importantes (Dekkers, 2004). Inicialmente, esta búsqueda de QTLs se realizó utilizando marcadores de tipo microsatelite permitiendo identificar regiones de interés a lo largo del genoma. En la actualidad, con la revolución genómica y las nuevas tecnologías, los SNPs presentan claras ventajas versus los marcadores de tipo microsatélite en la identificación de genes de interés productivo ya que se han creado chips que permiten el genotipado simultáneo de miles de SNPs, por lo que existe una fuerte tendencia del uso de marcadores SNPs.

La localización de QTLs, se efectúa mediante el estudio genético de la segregación de alelos polimórficos de marcadores moleculares. Para ello es muy importante la utilización de los mapas físicos y genéticos existentes, y la presencia de un adecuado diseño estadístico aplicado a una población porcina estructurada, donde previamente se hayan medido los valores fenotípicos para los caracteres de interés. Cuando mayor sea el número de marcadores polimórficos, distribuidos a través del genoma, así como mayor sea el número animales analizados, mayor será la posibilidad de detectar desequilibrio de ligamiento entre algún marcador y el posible QTL (Rothschild, 2000). E identificar las asociaciones de determinados *loci* y caracteres cuantitativos de interés.

Gracias al incremento de marcadores polimórficos moleculares en los mapas genéticos, así como la adecuación y desarrollo constante de programas estadísticos y diseños experimentales, se ha logrado optimizar sensiblemente la localización de QTLs

En la especie porcina, el reporte de QTL relacionados a diferentes caracteres de interés en las bases de datos disponibles en la web (<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index>), ostenta una larga lista. Es así que hasta el cierre del año 2015 se reportaron un total de 14479 QTL relacionados con 592 caracteres diferentes en porcino de un total de 507 publicaciones (Zhi-Liang *et al.*, 2016). Siendo los caracteres de interés económico los más estudiados y como consecuencia existen QTLs descritos para una gran variedad de caracteres como por ejemplo el ácido palmítico (Figura 4) sobre el cual se han descrito QTLs distribuidos en la mayor parte de los cromosomas excepto en los cromosomas SSC3 y SSCY

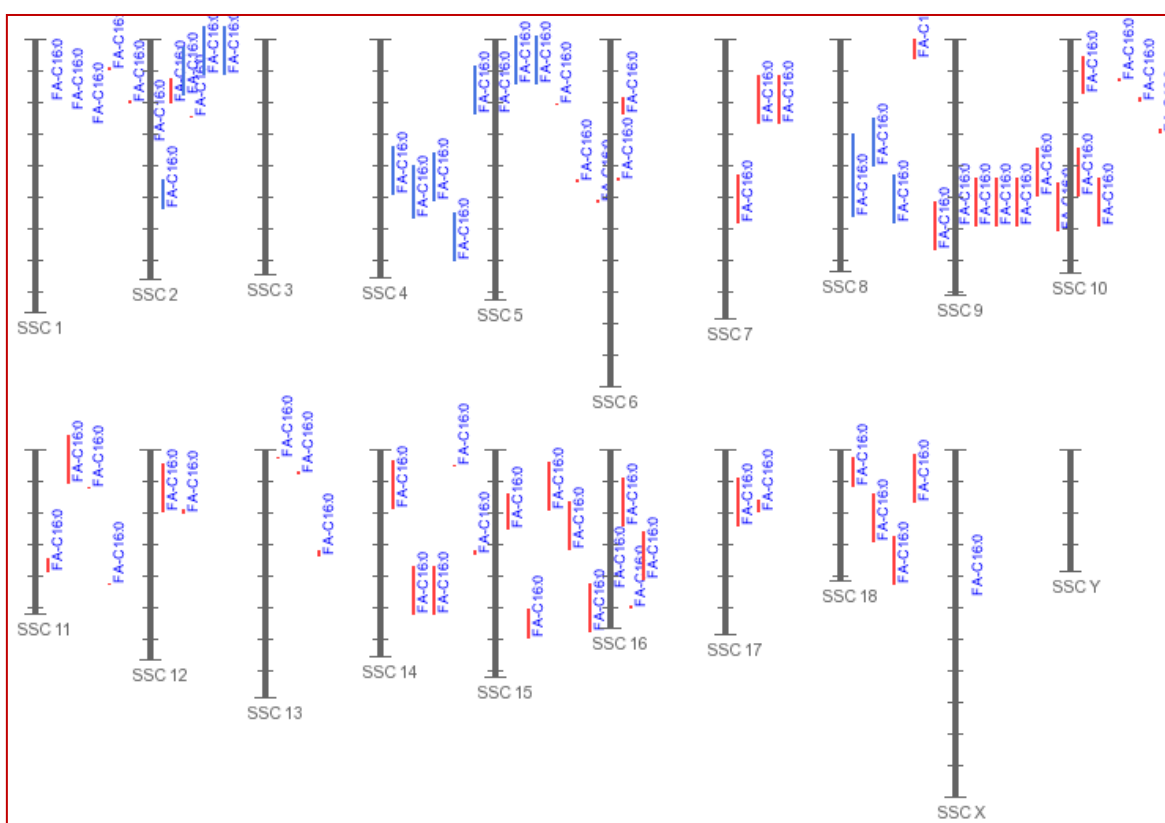


Figura 4: Distribución genómica de QTLs identificados en distintos estudios para el contenido de ácido palmítico (C16:0) en la especie porcina (PigQTLdb, 2016)

A pesar que los cruces experimentales han resultado muy útiles para la identificación de un gran número de QTLs existen algunas limitaciones y consideraciones a tener en cuenta:

- Se asume que las dos líneas parenterales tienen fijados alelos alternativos para el QTL, pero esta condición no siempre se cumple
- Al generar la segregación mediante el cruzamiento es probable que los QTL detectados no estén segregando en las poblaciones comerciales

Cabe mencionar algunas dificultades en la identificación de QTL y mutaciones que explican los QTL. Una de las mayores dificultades de los caracteres multifactoriales no es la detección de QTL sino la identificación de genes y mutaciones causales. También, que el problema con los caracteres cuantitativos es que un QTL solo explica una parte de la varianza fenotípica ya que no existe una relación directa entre el fenotipo y el genotipo (Ibáñez, 2010)

1.6 Genome-wide association study

El estudio de asociación del genoma completo conocido por sus siglas en inglés como GWAS es un análisis de una variación genética a lo largo de todo el genoma con el objetivo de identificar su asociación a un rasgo observable. El objetivo de los GWAS es examinar, de forma independiente, las asociaciones entre SNPs y rasgos fenotípicos cuantitativos o enfermedades de interés (Bush *et al.*, 2012). Se asume que las asociaciones estadísticas significativas entre el carácter y el marcador SNP son detectados porque el marcador está en desequilibrio de ligamiento con la mutación causal. La asociación de cada SNP con el fenotipo mediante correlación de Spearman o la regresión lineal, mientras que para fenotipos categóricos se usan test de chi-cuadrado, tablas de contingencia o regresión logística (Stranger *et al.*, 2011).

Sin embargo, la dificultad que presentan este tipo de análisis es que al tratarse de un estudio de múltiples pruebas, las asociaciones deben repetirse para miles de SNPs por lo que es recomendable aplicar correcciones como la de Bonferroni. Siendo este tipo de correcciones la más utilizadas en estudios de asociación del genoma completo (Manolio *et al.*, 2014)

Con la implementación de los chips de alta densidad se han llevado a cabo varios estudios GWAS que han permitido analizar la arquitectura genética de diversos fenotipos de interés económico Tabla 3.

Tabla 3: Análisis de asociación genómicos realizados en porcino hasta 2016

Caracteres	Referencia
Crecimiento y conformación corporal	Fernández et al. (2012)
Vida reproductiva	Onteru et al.(2011 y 2012)
Parámetros reproductivos	Schneider et al. (2012)
Grasa dorsal, área del musculo del lomo y conformación corporal	Fan et al. (2011)
Susceptibilidad al síndrome respiratorio y reproductivo porcino	Boddicker et al. (2012)
Parámetros hematológicos	Luo et al. (2012) Wang et al. (2013)
GIM y grasa dorsal	Hernández-Sanchez et al. (2012)
Calidad de la carne	Luo et al. (2012) Ma et al. (2013)
Porcentaje y composición de la grasa IM	Ramayo- Caldas et al. (2012) Yang et al (2013)
Porcentaje y composición de la grasa IM y BF	Muñoz et al. (2013)
Calidad seminal del verraco	Sanchez, et al (2016)
Enfermedades congénitas	Heylen et al (2016)

La composición de ácidos grasos ha sido ampliamente estudiada con el objetivo de conocer la base genética de estos caracteres. Ramayo-Caldas *et al.*, (2012), mediante GWAS evaluaron 32 caracteres relacionados con la composición de los ácidos grasos en la GIM (grasa intramuscular) en el retrocruce Landrace. En este estudio identificaron 813 SNPs asociados significativamente con la composición de la GIM que se encuentran distribuidos en 43 intervalos cromosómicos, así como también regiones cromosómicas como el SSC8 que presentan múltiples asociaciones a los ácidos grasos palmítico y palmitoleico y varios ratios.

Yang *et al.*,(2013) utilizó un GWAS para evaluar la composición de los ácidos grasos de la GIM de dos tejidos (músculo LD y grasa abdominal) en dos poblaciones: un cruce F1 (*Duroc* x *Erhualian*) y otra población de raza pura *Sutai*. En este análisis, se obtuvo evidencias de una fuerte asociación entre regiones genómicas de SSC6 y SSC14 y los porcentajes de ácido esteárico y araquídico, respectivamente.

En otro trabajo (Hernández-Sánchez et al., 2013), se evaluó el contenido de la GIM y el espesor de la grasa dorsal en los músculos LD y GM donde se identificaron regiones asociadas en los cromosomas SSC6 y SSC14

Tabla 4: Regiones cromosómicas asociadas a los principales ácidos grasos medidos en *Longissimus dorsi* y grasa dorsal en porcino descubiertas a partir del uso de GWAS

Carácter	SSC	Referencia
SFA		
C14:0	5,6,8,15,16,17	(Munoz et al. 2013); (Ramayo-Caldas et al. 2012)
C16:0	1,2,4,8,11,12,13,14,15,17,18	(Ramayo-Caldas et al. 2012); (Munoz et al. 2013)
C18:0	14	(Yang et al. 2013)
C20:0	5,16	(Yang et al. 2013); (Ramayo-Caldas et al. 2012)
MUFA		
C16:1(n7)	4,5,6,7,8,15,17	(Ramayo-Caldas et al. 2012); (Munoz et al. 2013)
C18:1(n9)	1,4,6,11,13,	(Ramayo-Caldas et al. 2012); (Munoz et al. 2013)
PUFA		
C18:2(n6)	1,4,6,7,11,14,	(Ramayo-Caldas et al. 2012)
C18:3(n3)	7	(Yang et al. 2013)
C20:3(n6)	1,4,7,8,	(Yang et al. 2013); (Munoz et al. 2013)
Ratios Metabólicos		
SFA	1,4,7,13,14,	(Ramayo-Caldas et al. 2012)
MUFA	4,6,11,	(Ramayo-Caldas et al. 2012)
PUFA	1,4,14,	(Ramayo-Caldas et al. 2012)
C18:1(n7)/C16:1(n7)	3,4,8,17	(Ramayo-Caldas et al. 2012)
C16:1(n7)/ C16:0	3,4,8,	(Ramayo-Caldas et al. 2012)

1.6 Genes candidatos

1.6.1 Gen *Porcine insulin-like growth factor 2*

Van Laere *et al.*, (2003), describió la mutación causal de un QTL del cromosoma SSC2 porcino para la masa muscular y la deposición de grasa en el gen *IGF2*, que conduce a un aumento de la masa muscular y a una disminución del espesor de la grasa dorsal, sin que por ello se vea afectada la calidad de la carne. (Carrodeguas *et al.*, 2005; Estellé *et al.*, 2005; Van den Maagdenberg *et al.*, 2008; Fontanesi *et al.*, 2010). Este polimorfismo, una sustitución 3072G>A en el tercer intrón de dicho gen, altera un sitio de unión de un represor nuclear, triplicando la expresión del ARNm de este en el músculo esquelético durante el crecimiento post-natal sólo cuando el alelo A es heredado del progenitor masculino (*imprinting materno*).

En este sentido, la proteína CTCF juega un papel básico en la represión del gen, uniéndose a la región de control de la expresión H19, junto con la *Differentially Methylated Region 1* (DMR1) y la *Región de Adjunto de Matriz-3* (MAR3), estas dos secuencias de ADN se unen a la CTCF de forma que limita el acceso de la polimerasa a la región *IGF2*. El mecanismo de unión es aún desconocido, podría ser mediante una interacción directa ADN-CTCF o a través de otras proteínas.

Este factor de crecimiento es una hormona peptídica monocatenaria similar a la insulina, importante en el crecimiento fetal en células y está relacionado con el crecimiento de determinados tumores

En los cerdos, el *imprinting* del gen *IGF2* es específico de tejido muscular (Van Laere *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2010). El efecto que produce el SNP en el intrón 3 (*intron3-g.3072G IGF2 > A*) sobre el crecimiento muscular y el efecto positivo en varias características de la canal, especialmente en el contenido de grasa intramuscular fue confirmado posteriormente en varias poblaciones de cerdos (Estellé *et al.*, 2005; Oczkowicz *et al.*, 2009; Fontanesi *et al.*, 2010). Burgos *et al.*, (2012) que evaluó los efectos de los dos alelos de *IGF2* en el contenido de grasa en las canales de cerdo destinados a la producción de jamón, el alelo A paternalmente heredado tiene fuertes efectos adipogénicos a nivel tejido adiposo subcutáneo y aumenta el contenido de grasa intermuscular en jamón.

1.6.2 Gen *Pyruvate Dehydrogenase Complex, Component X*

El gen *PDHX* codifica una proteína llamada proteína de unión E3, que es parte de un gran grupo de proteínas del complejo piruvato deshidrogenasa. E3 agrega la enzima de unión y proporciona la estructura correcta para el funcionamiento del complejo piruvato deshidrogenasa que juega un papel importante en las vías que convierten la energía de los alimentos. La enzima convierte el piruvato, que se forma por la descomposición de los hidratos de carbono, en acetil- CoA. Esta conversión es esencial para iniciar una serie de reacciones químicas que producen trifosfato de adenosina (ATP), principal fuente de energía de la célula.

La localización molecular de este gen es: 28,381,683.28,461,798 pb en el cromosoma SSC2 y en humanos la mutación de este gen causa acidosis láctica, retraso

en el desarrollo y problemas neurológicos. En especies avícolas y bovinas este gen ha sido asociado al crecimiento óseo-muscular. (Zhi-Liang *et al.*, 2016)

1.6.3 Gen *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha*

El gen *PPARGC1* codifica el coactivador 1 alfa del receptor gamma activado por proliferadores peroxisómicos, que es un cofactor que interviene en la transcripción de ciertos genes, entre ellos *MEF2* (*Muscle Enhancer Factor*) que determina el tipo de fibra muscular (promueve la transición de fibras de tipo IIb, glicolíticas o blancas a tipo I y IIa, oxidativas y rojas). En células de tejido graso se relaciona con la formación de depósitos de grasa parda, porque co-activa *PPAR α* , *PPAR γ* y hormonas tiroideas (Puigserver *et al.*, 1998) Por su rol fisiológico es considerado como gen candidato para la terneza y el contenido de grasa. Este gen en bovino está asociado con composición de la leche ya que identificaron varios SNPs y uno de ellos se halló significativamente asociado con contenido de grasa en la leche en vacas Holstein (Fonseca *et al.*, 2015). En cerdos un SNP del gen ha sido asociado con conversión alimenticia, grasa abdominal y subcutánea (Polasik *et al.*, 2013). Además, en un estudio realizado por (Soria *et al.*, 2007) sugirió que este gen no solo está asociado con la grasa intramuscular y la grasa dorsal sino que además muestra altos niveles de expresión sobre el tejido muscular.

1.6.4 Gen *Phospholipase A2 group XIII*

La localización molecular del gen *PLA2G12A* es: 120566827:120596000 pb en el cromosoma SSC8 y presenta 4 exones. *PLA2G12A* es un miembro de la familia de la fosfolipasa A2 (*PLA2*) que cataliza la hidrólisis de la posición sn-2 de los glicerofosfolípidos de membrana para liberar lisofosfolípidos. Gelb *et al.*, (2000) encontró que *PLA2G12A* recombinante tenía una actividad enzimática que era estrictamente dependiente de Ca (2+) y que su actividad es más baja que la de otros *PLA2s* y concluyeron que *PLA2G12A* no es un gen de mantenimiento y probablemente tiene funciones fisiológicas distintas de las de otros *PLA2* humanos.

1.6.5 Gen *SET Domain Containing (Lysine Methyltransferase)*

El dominio *SET* contiene una lisina metiltransferasa. El gen *SETD7* codifica para una histona metiltransferasa que metila específicamente la Lys-4 de la histona H3. Esta metilación representa una etiqueta epigenética específica para la activación transcripcional. Además, desempeña un papel central en la activación transcripcional de genes tales como la colagenasa y la insulina. *SETD7* es también un regulador de ADN (citosina-5)-metiltransferasa1 (*DNMT1*), que es responsable del mantenimiento de los patrones de metilación del ADN en las divisiones celulares (Estève *et al.*, 2009).

El gen *SETD7* porcino (ENSSSCG00000030396) consta de 38.136 pb y 7 exones. Este gen se transcribe a un ARNm de 5.915 pb (ENSSSCT00000023019). Asimismo, el gen codifica una proteína de 353 aminoácidos. Revilla *et al.*, (2014) estudió a este gen como candidato posicional, donde se identificó 9 SNPs en el gen *SETD7*. Sin embargo no se detectó ninguna asociación significativa para el SNP de *SETD7*: c.700G>T a la composición de ácidos grasos en grasa dorsal.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

El presente trabajo forma parte del proyecto MINECO AGL2014-56369-C2-R desarrollado en colaboración entre el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA) y el *Centre de Recerca en Agrigenomica (CRAG)*. Este proyecto ha sido posible gracias a datos masivos de genotipos y expresión génica obtenidos previamente en un retrocruce entre Ibérico (línea Guadyerbas) y Landrace por el proyecto IBMAP. Esta investigación tiene como objetivo fundamental determinar la arquitectura genética de varios caracteres de interés productivo. Así, los objetivos específicos de la presente tesis son los siguientes:

1. Identificar mediante una aproximación GWAS regiones genómicas asociadas significativamente con la variación fenotípica de los caracteres relacionados con el crecimiento, calidad de la canal y la composición de ácidos grasos medidos en dos depósitos lipídicos: grasa intramuscular y grasa dorsal.
2. Validación de polimorfismos genéticos, asociados a caracteres del crecimiento, calidad de la canal y la composición de ácidos grasos medidos en grasa intramuscular y en grasa dorsal en una población diversa que incluye tres retrocruces de Ibérico con las razas Landrace, Duroc y Pietrain.
3. Analizar la expresión génica en músculo de los genes candidatos posicionales *IGF2*, *PDHX*, *PPARGC1A*, *PLA2G12A* y *SETD7*.

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material animal

La población utilizada en el presente estudio denominada IBMAP, descende del cruce de tres verracos Ibéricos de la línea Guadyerbos con 31 cerdas Landrace de la granja de experimental de *Nova Genética S.A.* ubicada en Lleida, España. La línea Landrace fue seleccionada para un índice que combina tamaño de la camada, grasa dorsal, y el crecimiento. Por lo tanto, las dos líneas utilizadas en este experimento son altamente divergente para los rasgos estudiados (Serra *et al.*, 1998)

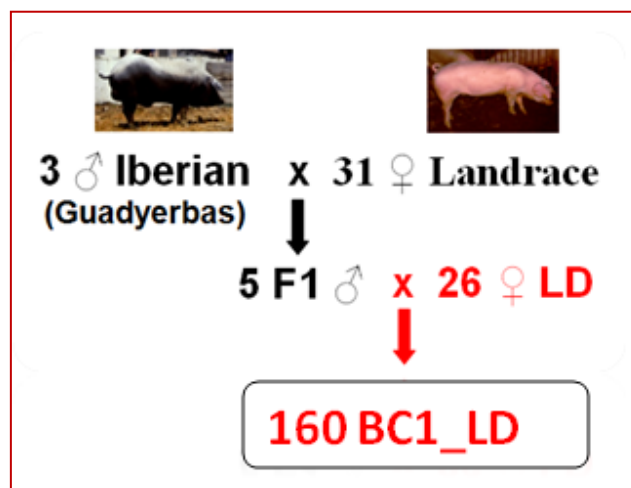


Figura 5: Apareamientos experimentales para obtener el retrocruce Landrace.

La población F1 estuvo conformada por 79 animales, de los cuales 5 machos F1 se cruzaron con 26 hembras Landrace, de este cruce se obtuvieron 160 animales con una proporción de 25% Ibérico y 75% Landrace, que conforman el retrocruce Landrace (BC1_LD). Estos animales fueron tratados en condiciones normales de uso intensivo. La alimentación fue *ad libitum* a base de cereales con un aporte energético de 2450 kcal/kg (composición: 18% proteína, 3.8% fibra, 7 % grasa, 1 % lisina y 0.3% metionina) y los machos no castrados. Los cerdos fueron sacrificados en 5 grupos contemporáneos siguiendo un protocolo comercial. La edad media del sacrificio fue a los 175,5 días \pm 0,3 días.

Los experimentos fueron realizados bajo las directrices institucionales para el uso y tratamiento ético de animales en experimentos. Además, el protocolo fue aprobado por el Comité Ético de la Institución IRTA (*Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries*).

También se contó con un retrocruce Duroc (25% Ibérico y 75% Duroc) originado por el cruce de cerdos Ibéricos de la línea Torbiscal y hembras de la raza Duroc, 5 machos F1 de este cruce fueron cruzados con 22 hembras Duroc para obtener el retrocruce Duroc (BC1_DU), constituido por 150 animales. Estos animales fueron alimentados *ad libitum* durante toda la crianza. Inicialmente, les fue suministrada una dieta con un aporte energético de 2450 kcal/kg (composición: 18% proteína, 3.8% fibra, 7 % grasa, 1 % lisina y 0.3% metionina), hasta que los cerdos alcanzaron los 150 días de edad y aproximadamente 90 kg de peso vivo. Fueron sacrificados en un matadero comercial a los 190 días de edad (aproximadamente a los 122 kg de peso vivo).



Figura 6: Apareamientos experimentales para obtener el retrocruce Duroc

Finalmente, se tuvo en cuenta una población que se originó a partir de un cruce experimental entre machos Ibéricos que pertenecen a la línea Torbiscal a los cuales se les cruzó con hembras de raza Pietrain originando la población F1; de esta población se

seleccionó 7 machos F1 que fueron cruzados con 33 hembras de raza Pietrain, produciendo el retrocruce Pietrain (BC1_PI), siendo este 25% Ibérico y 75% Pietrain y que estuvo conformado por un total de 137 animales, los mismo que fueron criados bajo un régimen de alimentación *ad libitum* con un aporte energético de 2450 kcal/kg (composición:18% proteína, 3.8% fibra, 7 % grasa, 1 % lisina y 0.3% metionina)y se sacrificaron a 180 días \pm 2.8 días.

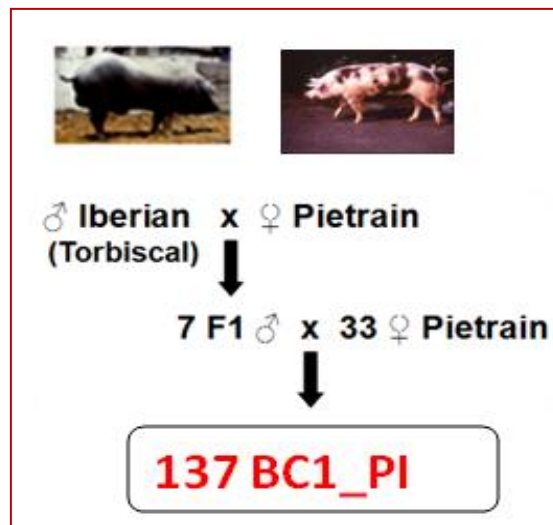


Figura 7: Apareamientos experimentales para obtener el retrocruce 1 Pietrain

3.2 Datos fenotípicos

Para el estudio de asociación se incluyeron fenotipos de interés económico relacionados con 16 caracteres de crecimiento y calidad de la canal.

Tabla 5: Caracteres de crecimiento y calidad de la canal analizados en los retrocruces: Landrace, Duroc y Pietrain

Abreviatura	Descripción
CW	Peso de la canal
ENDAGE	Edad al sacrificio
PH45SM	pH45 <i>Semimembranosus</i>
PH45LD	pH45 <i>Longissimus dorsi</i>
PH24	pH24 Post mortem
CRCL	Longitud de la canal
BELLYWT	Peso de las chuletas
34RIBBFT	Grasa de regleta, medida entre la 3ª y 4ª costilla
HAMWT	Peso medio de ambos jamones
SHOUWT	Peso medio de ambas paletillas
IMF	Contenido de grasa intramuscular
BW125	Peso a los 125 días
BFT125	Espesor de la grasa dorsal en los 125 días
BW155	Peso a los 155 días
BFT155	Espesor de la grasa dorsal en los 155 días
BW180	Peso a los 180 días
BFT180	Espesor de la grasa dorsal en los 180 días

Pero también se incluyeron fenotipos relacionados con la composición e índice metabólico de los ácidos grasos que fueron medidos en dos depósitos lipídicos diferentes como son la grasa intramuscular (LD) y en la grasa dorsal (BF).

Un total de treinta y seis fenotipos de la composición e índice metabólicos de los ácidos grasos medidos en la grasa intramuscular fueron incluidos. El porcentaje de ácidos grasos fue medido mediante la técnica de *Near Infrared Transmittance* (NIT, *Infratec 1625, Tecator Hoganas, Sweden*), un protocolo basado en la cromatografía de gases de los ésteres metílicos, el cual básicamente infiere el contenido de grasa intramuscular a partir de las características de absorción y transmisión de la luz que varían según la composición de los tejidos (Mach *et al.*, 2006).

Tabla 6: Caracteres analizados de la composición, índice y ratios de ácidos grasos medidos en *Longissimus dorsi*

Abreviatura	Carácter	Nombre
SFA		
	C14:0	Ácido Mirístico
	C16:0	Ácido palmítico
	C17:0	Ácido Heptadecanoico
	C18:0	Ácido esteárico
	C20:0	Ácido araquídico
MUFA		
	C16:1(n-7)	Ácido palmitoleico
	C16:1(n-9)	Ácido hexadecenoico
	C17:1	Ácido heptadecanoico
	C18:1(n-9)	Ácido oleico
	C18:1(n-7)	Ácido octadecanoico
	C20:1(n-9)	Ácido eicosanoico
PUFA		
	C18:2(n-6)	Ácido linoleico
	C18:3(n-3)	Ácido α -Linoleico
	C20:2(n-6)	Ácido eicosadienoico
	C20:3(n-6)	Ácido eicosatrienoico
	C20:4(n-6)	Ácido araquidónico
Ratios metabólicos		
	ACL	Longitud de cadena media
	Σ SFA	SFA
	Σ MUFA	MUFA
	Σ PUFA	PUFA
	PI	Peroxidability índices
	DBI	Índice de dobles enlaces
	UI	Índices insaturados
	PUFA_SFA	Ratio PUFA a SFA
	MUFA_SFA	Ratio MUFA a SFA
	MUFA_PUFA	Ratio MUFA a PUFA
FA Ratios		
Δ9- actividad desaturasa		
	C16:1(n-7)/C16:0	
	C18:1(n-9)/C18:0	
	C20:1/C20:0	
Δ5- actividad desaturasa		
	C20:4(n-6)/C20:3(n-6)	
Actividad de elongación		
	C18:1(n-7)/C16:1(n-7)	
	C20:2(n-6)/C18:2(n-6)	
Combinación de los efectos de la desaturación y elongación		
	C20:3(n-6)/C18:2(n-6)	
	C20:4/C18:2(n-6)	
Omega3-omega6		
	C18:2(n-6)/C18:3(n-3)	

En la grasa dorsal, se midieron 29 fenotipos para la composición e índice metabólicos de los ácidos grasos que también fueron incluidos.

Tabla 7: Caracteres analizados de la composición, índice y ratios de ácidos grasos medidos en grasa dorsal

Abreviatura	Carácter	Nombre
SFA		
	C14:0	Ácido Mirístico
	C16:0	Ácido palmítico
	C17:0	Ácido Heptadecanoico
	C18:0	Ácido esteárico
	C20:0	Ácido araquídico
MUFA		
	C16:1(n-7)	Ácido palmitoleico
	C16:1(n-9)	Ácido hexadecenoico
	C17:1	Ácido heptadecanoico
	C18:1(n-9)	Ácido oleico
	C18:1(n-7)	Ácido octadecanoico
	C20:1(n-9)	Ácido eicosanoico
PUFA		
	C18:2(n-6)	Ácido linoleico
	C18:3(n-3)	Ácido α -Linoleico
	C20:3(n-6)	Ácido eicosatrienoico
	C20:4(n-6)	Ácido araquidónico
Ratios metabólicos		
	Σ SFA	SFA
	Σ MUFA	MUFA
	Σ PUFA	PUFA
	PUFA_SFA	Ratio PUFA a SFA
	MUFA_SFA	Ratio MUFA a SFA
	MUFA_PUFA	Ratio MUFA a PUFA
FA Ratios		
Δ^9- actividad desaturasa		
	C16:1(n-7)/C16:0	
	C18:1(n-9)/C18:0	
	C20:1(N-9)/C20:0	
Δ^5- actividad desaturasa		
	C20:4(n-6)/C20:3(n-6)	
Actividad de elongación		
	C18:1(n-7)/C16:1(n-7)	
Combinación de los efectos de la desaturación y elongación		
	C20:3(n-6)/C18:2(n-6)	
	C20:4/C18:2(n-6)	
Ratio Omega3-omega6		
	C18:2(n-6)/C18:3(n-3)	

3.3 Datos genotípicos

Fueron genotipados un total de 160 animales que pertenecen al retrocruce Landrace (BC1_LD) mediante el chip *Illumina PorcineSNP60 BeadChip* (Illumina Inc., San Diego, CA), empleando para ello el protocolo *Infinium HD Assay Ultra*. Utilizando

el programa Plink *Whole Genome Association Analysis Toolset* (Purcell *et al.*, 2007), se actualizaron las coordenadas genómicas basada en la información de la secuencia genómica disponibles desde el 15 de noviembre de 2013 y de acuerdo a esta última versión de la secuencia del genoma porcino (*Sscrofa10.2 Assembly*), se realizó el filtrado de los 64.232 SNPs incluidos en el chip, teniendo en cuenta criterios de exclusión como:

- Eliminación de los SNPs localizados en más de dos posiciones
- SNPs localizados en el cromosoma Y
- Los que presentan un *Minor Allele Frequency* (MAF) inferior al 5 %
- Aquellos que presentaren valores de *missing genotypes* superior al 5%.

Luego del filtrado, el GWAS se realizó con un total de 40.762 SNPs para ser analizados con los caracteres de crecimiento. En tanto, para analizar la composición de ácidos grasos medidos en *Longissimus dorsi* se genotipó 142 animales y el GWAS se llevo a cabo con 40.553 SNPs y para grasa dorsal se genotipó 155 animales y el análisis de asociación se realizó con 40.565 SNPs.

También se genotiparon 5 SNPs que se encuentran en dos regiones cromosómicas. En el cromosoma SSC2 los genes *IGF* y *PDHX* y en el cromosoma SSC8 los genes *PPARGC1A*, *PLA2G12A* y *SETD7* con la técnica de *OpenArray*. Con el genotipo de estos polimorfismos se llevo a cabo estudios de asociación, analizando de una manera global los 3 retrocruces en conjunto, pero también se analizó de manera individual el efecto de cada retrocruce sobre caracteres de crecimiento y calidad de la canal, así como también para la composición de ácidos grasos medidos en *Longissimus dorsi* y grasa dorsal

Tabla 8: Número de animales genotipados en los 3 retrocruces utilizados para realizar los diferentes estudios de asociación

Retrocruce	Nº de animales genotipados		
	Caracteres de crecimiento	Composición de AG en <i>Longissimus dorsi</i>	Composición de AG en grasa dorsal
BC1_LD	116	142	155
BC1_DU	95	150	149
BC1_PI	137	116	144

3.4 Análisis de expresión génica

A partir de muestras de músculo (*Longissimus dorsi*) de 144 animales del BC1_LD (Puig-Oliveras et al. 2014) y de 123 animales experimentales (62 animales del BC1_DU y 61 animales del BC1_PI), que fueron congeladas con nitrógeno líquido y almacenadas a - 80°C. Se aisló el ARN total, utilizando el kit *RiboPureTM* (Ambion). El ARN total se cuantificó en un espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 (*NanoDrop*) y fue convertido a ADNc utilizando el kit *High-Capacity cDNA Reverse Transcription* (*Applied Biosystems*). Posteriormente se analizó la expresión génica de los genes *IGF2*, *PDHX*, *PPARGC1A*, *PLA2G12A* y *SETD7* utilizando el chip *Dynamic Array* de 48*48 (46 genes diana y 2 genes de referencia) en un sistema BioMark (*Fluidigm*). Para cada gen las medidas de expresión se han analizado con el programa *data-expression* y los genes *ACTB* y *TBP* fueron utilizados como genes endógenos.

3.5 Modelo estadístico

Para realizar el estudio de asociación (GWAS) se utilizó el programa *Qxpak 5.0* creado por (Pérez-enciso *et al.*, 2010) El *Qxpak*, ofrece una extremada flexibilidad para tratar modelos de análisis de ligamiento, análisis de asociación, *imprinting*, ligados al sexo, entre otros. Las estimas de los parámetro que obtiene el *Qxpak* es a partir de utilizar la máxima verosimilitud restringida, además estimas clásicas como el BLUP y estimaciones REML también se presentan debido a que el programa tiene en cuenta la herencia.

De modo que las estimas que obtiene el *Qxpak* es a partir de:

- Estimaciones de máxima verosimilitud o estimaciones REML mediante algoritmos específicos creados por Ignacy Misztal para el programa.
- Fxpak: que es un programa especializado en matrices dispersas
- Programas de modelos mixtos de QTL

Todos los registros fenotípicos fueron analizados bajo un modelo de efectos aditivos

$$Y_{ijk} = \text{Sex}_j + \text{Batch}_k + C_i + a_i + \mu_i + e_{ijk}$$

Donde;

y_i : corresponde al fenotipo del individuo i

Sex_j : sexo del individuo i (definido como efecto fijo)

$Batch_k$: Lote del individuo i (definido como efecto fijo)

C_i : covariables*

a_i : efecto aditivo del SNP

μ_i : efecto infinitesimal que se distribuye como $N(0, A\sigma_u^2)$

A : numerador de la matriz de parentesco.

σ_u^2 : varianza genética

e_i : residuo

Los p-valores obtenidos con el *Qxpak* fueron corregidos utilizando la librería de R llamada q-valor (Storey *et al.*, 2003), considerando significativos aquellos SNPs que logran pasar un *false discovery rate* (FDR) menor o igual que 0.05.

En los fenotipos relacionados con la calidad de la canal se utilizó como covariable el peso de la canal, excepto para las medidas de peso vivo a diferentes edades y el peso vivo al sacrificio que fueron corregidos por las correspondientes edades.

Para los caracteres relacionados con la composición de ácidos grasos se tuvo en cuenta como covariable el peso de la canal y como efecto fijos del modelo la edad, el sexo y el lote.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Estudio de Asociación Genómico

4.1.1 Análisis de asociación genómico para caracteres relacionados con la calidad de la canal y el crecimiento.

Se analizó la asociación entre los genotipos del *Porcine SNP60 BeadChip* y caracteres relacionados con el crecimiento y calidad de la canal en un retrocruce (25% Iberico 75% Landrace) de 160 animales. Con un total de 40.762 *SNPs* se realizó el *GWAS* observando que de los 16 caracteres que fueron analizados (Tabla 5) solamente se encontró asociaciones significativas para 2 caracteres (Figura 8) longitud de la canal (CRCL) y *pH 45 minutes post mortem measured in Longissimus dorsi* (pH45LD). En la Tabla 9, se muestran los resultados de los análisis de asociación para estos caracteres, indicando las regiones cromosómicas asociadas, el carácter en el que se observa asociación, el número de *SNPs* que fueron significativos, así como la identificación del *SNP* más significativo y sus valores de significación.

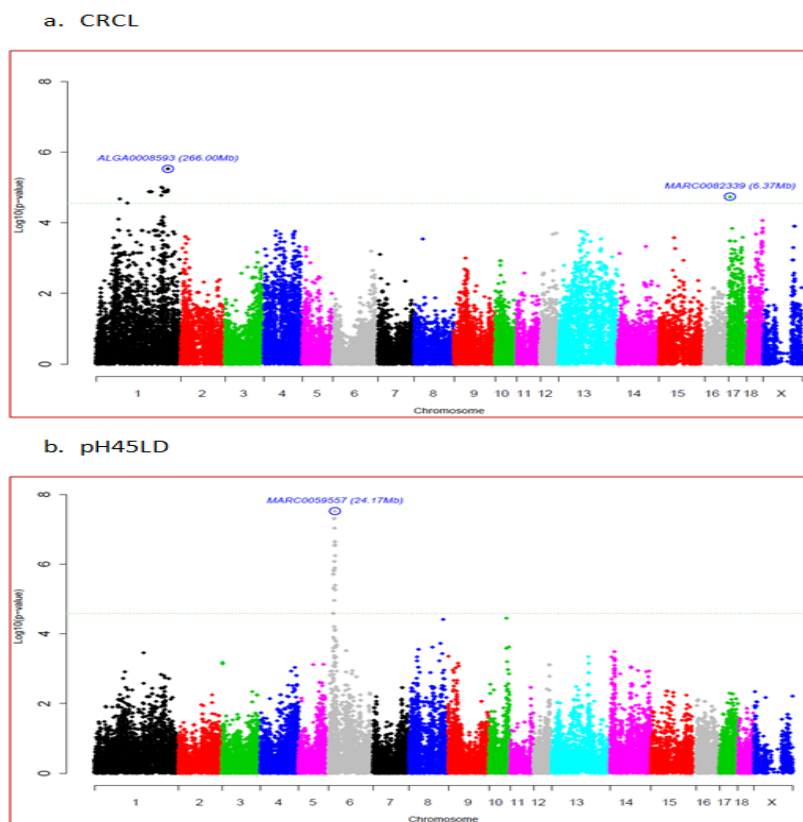


Figura 8: Manhattan plots de las regiones significativamente asociadas a nivel genómico con los caracteres de crecimiento y calidad de la canal. La línea verde es el nivel de significación con un *q*-valor ≤ 0.05

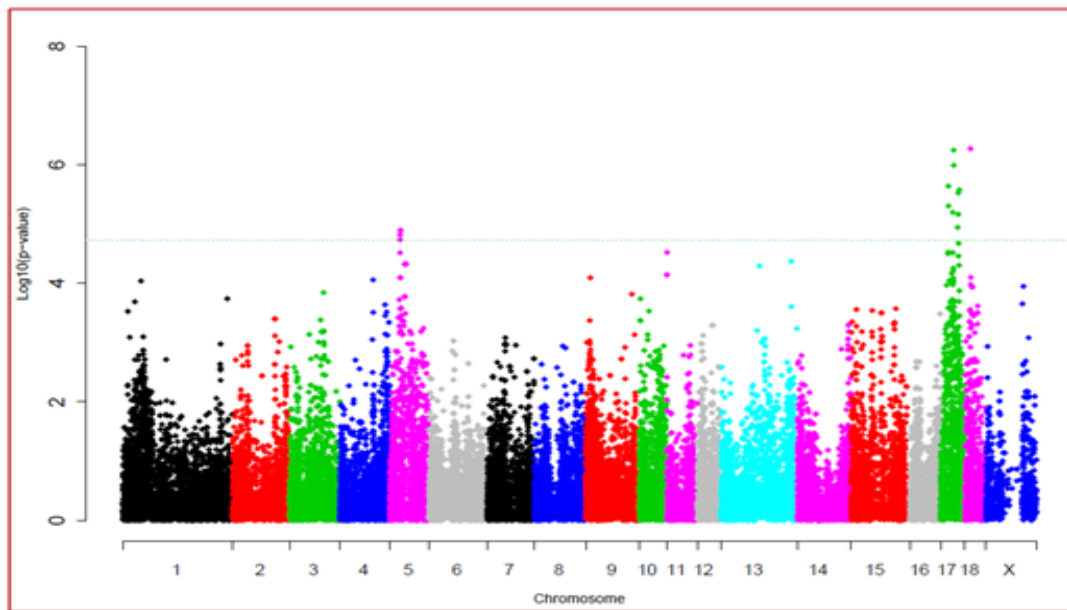
Tabla 9: Resumen de los SNPs más significativos asociados a caracteres de calidad de carne

Cromosoma	Carácter asociado	Número de SNPs significativos	SNP más significativo	p-valor	q-valor
1	CRCL	24	ALGA0008593	2,96E-06	2,55E-02
6	PH45LD	24	MARC0059557	3,00E-08	6,57E-04
17	CRCL	1	MARC0082339	1,85E-05	3,25E-02

4.1.2 Análisis de asociación genómico para caracteres relacionados con la composición de ácidos grasos en *Longissimus dorsi*

El análisis de asociación se realizó con 40.553 SNPs en un total de 36 caracteres (Tabla 6) de la composición e índice metabólico de los ácidos grasos medidos en la grasa intramuscular de 142 animales. Se detectó asociación significativa (q-valor < 0.05) en 19 de los 36 caracteres analizados, encontrando un total de 8.303 SNPs asociados significativamente a estos caracteres (Anexos Tabla 13). Varias fueron las regiones genómicas asociadas a la composición de ácidos grasos en grasa intramuscular, destacando entre los SFA, el ácido mirístico que muestra asociación significativa en los cromosomas SSC5, SSC17 y SSC18 y el ácido palmítico que muestra asociación en 13 cromosomas diferentes (Figura 9). Por su parte en el grupo de los MUFA, el ácido palmitoleico (Figura 10) está asociado a 8 regiones genómicas (SSC3, SSC4, SSC5, SSC6, SSC8, SSC9, SSC15 y SSC18) y el ácido oleico (Figura 10) muestra asociación en 8 cromosomas diferentes (SSC1, SSC4, SSC6, SSC9, SSC11, SSC13, SSC14 y SSC17).

Ácido Mirístico



Ácido Palmítico

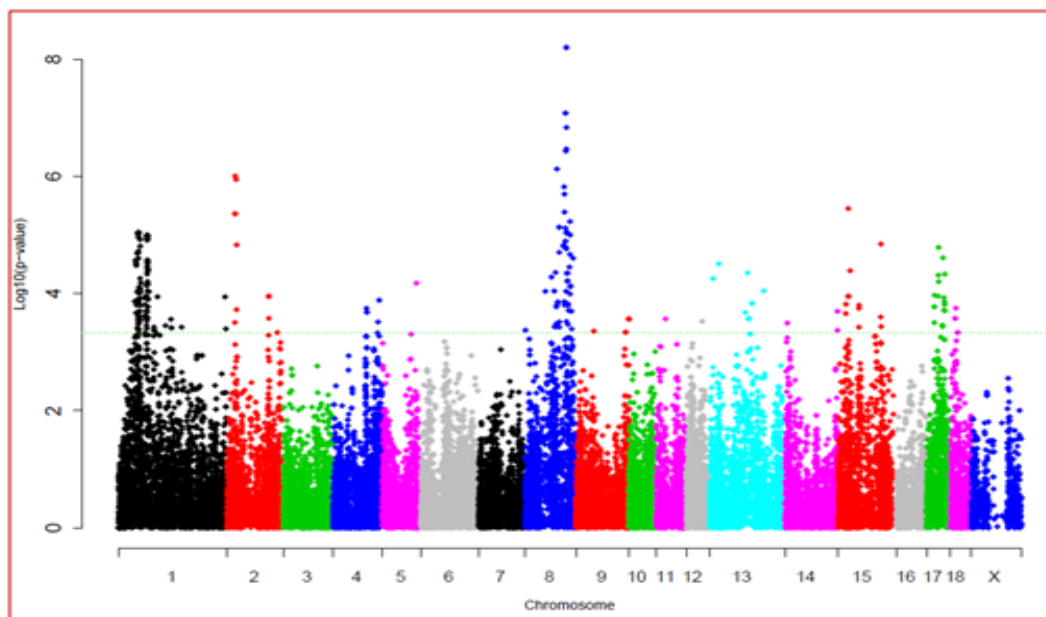
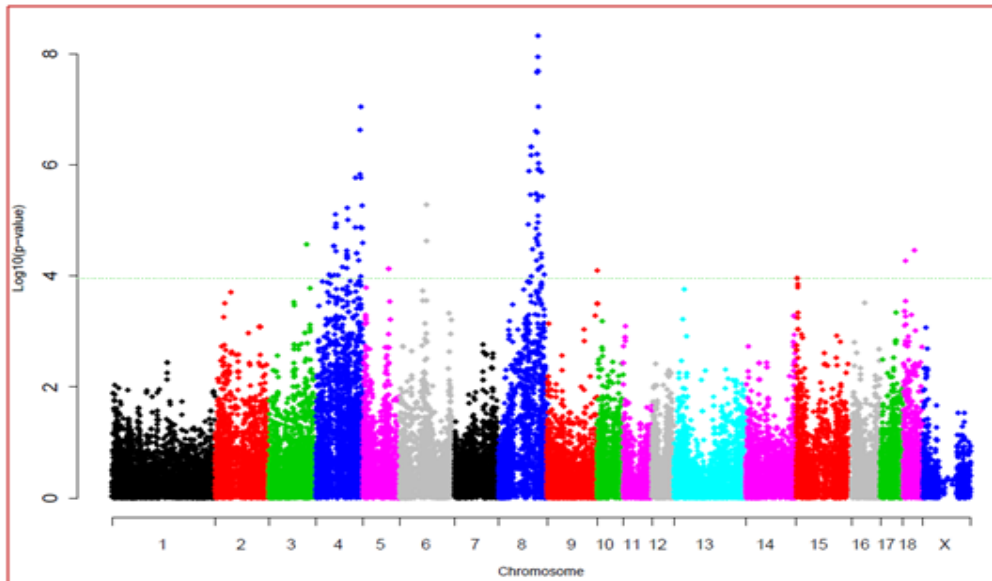


Figura 9: Manhattan plots de las regiones significativamente asociadas a nivel genómico con los caracteres de contenido y composición de ácidos grasos medidos en grasa intramuscular. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

Ácido Palmitoleico



Ácido Oleico

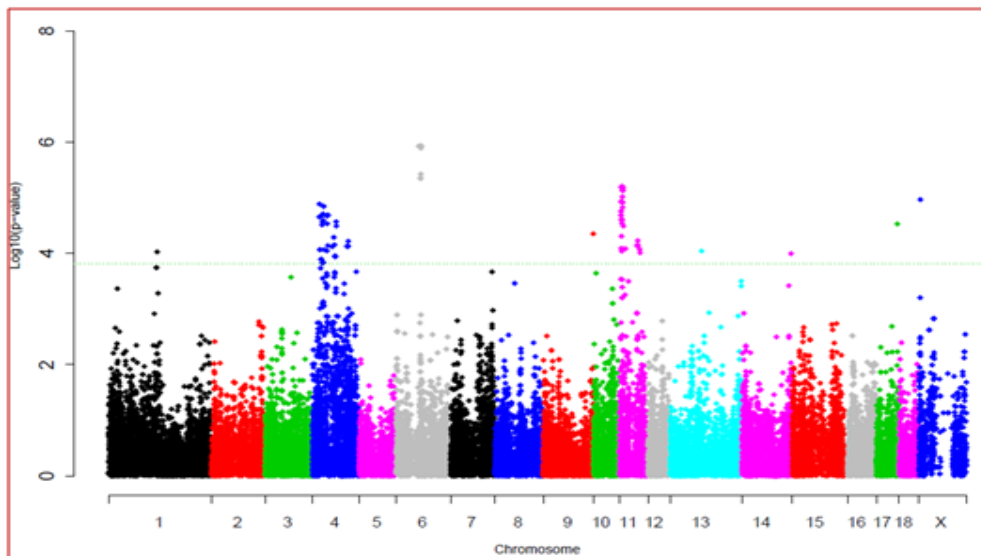
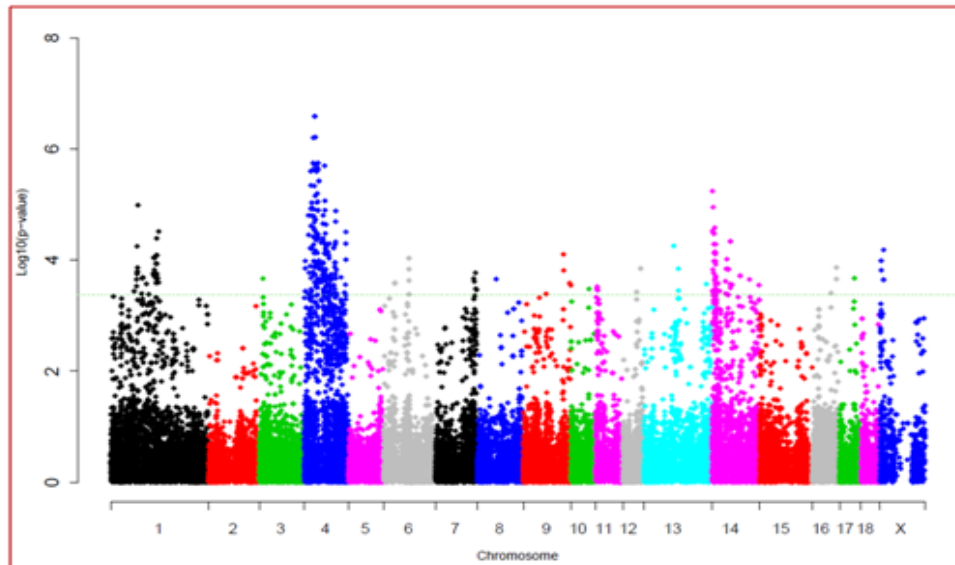


Figura 10: Manhattan plots de las regiones significativamente asociadas a nivel genómico con los caracteres de contenido y composición de ácidos grasos medidos en grasa intramuscular. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

Entre los PUFA cabe destacar, el ácido linoleico (Figura 11) que muestra asociación con 15 de las 19 regiones cromosómicas analizadas (SSC1, SSC3, SSC4, SSC6, SSC7, SSC8, SSC9, SSC10, SSC11, SSC12, SSC13, SSC14, SSC16, SSC17 y SSC18) y el ácido araquidónico (Figura 11) que muestra asociación en 4 cromosomas diferentes (SSC4, SSC11, SSC13 y SSC14). Además, se tuvo en cuenta el ratio

omega6_omega3, que muestra una interesante asociación significativa en el SSC18.
(Figura 12)

Ácido Linoleico



Ácido Araquidónico

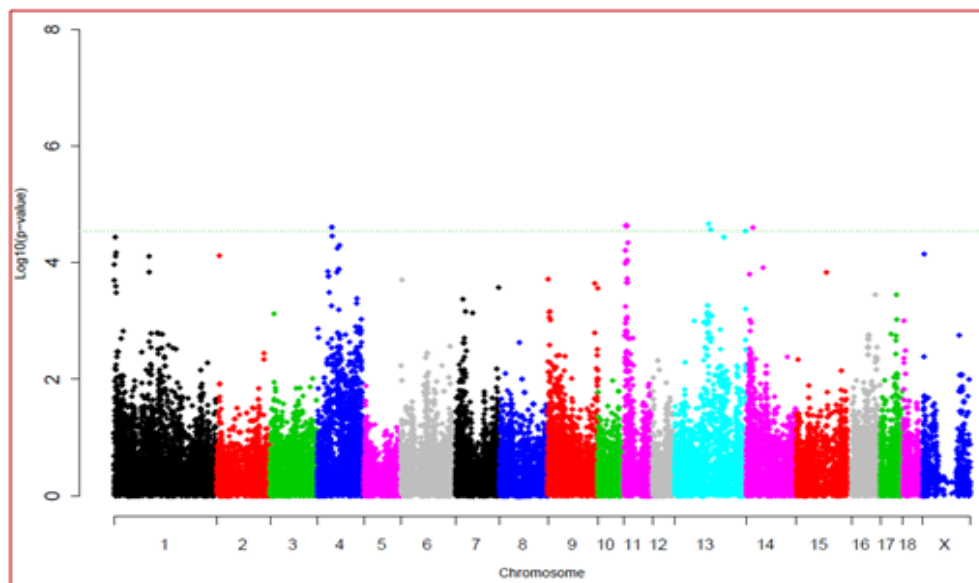


Figura 11: Manhattan plots de las regiones significativamente asociadas a nivel genómico con los caracteres de contenido y composición de ácidos grasos medidos en grasa intramuscular. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

Ratio Omega6-omega3

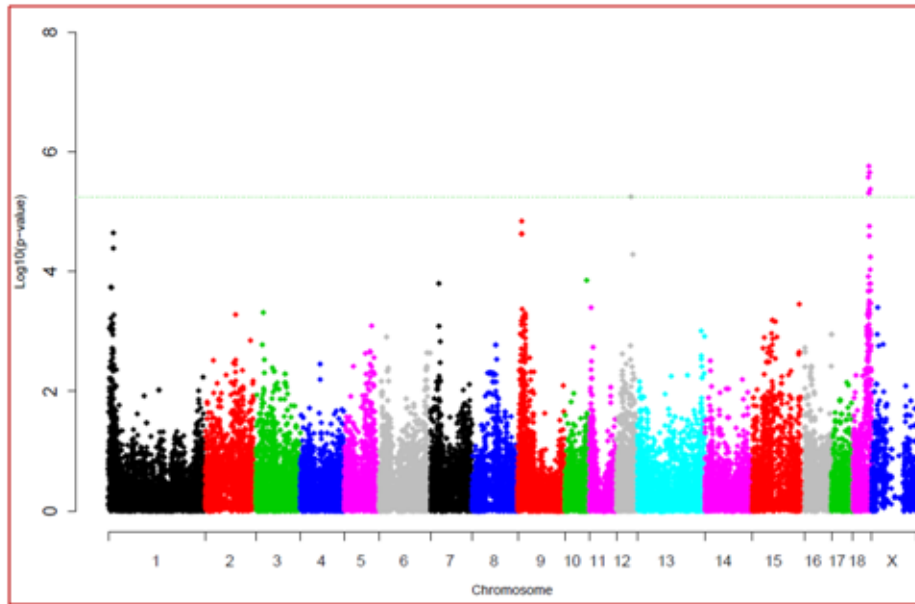
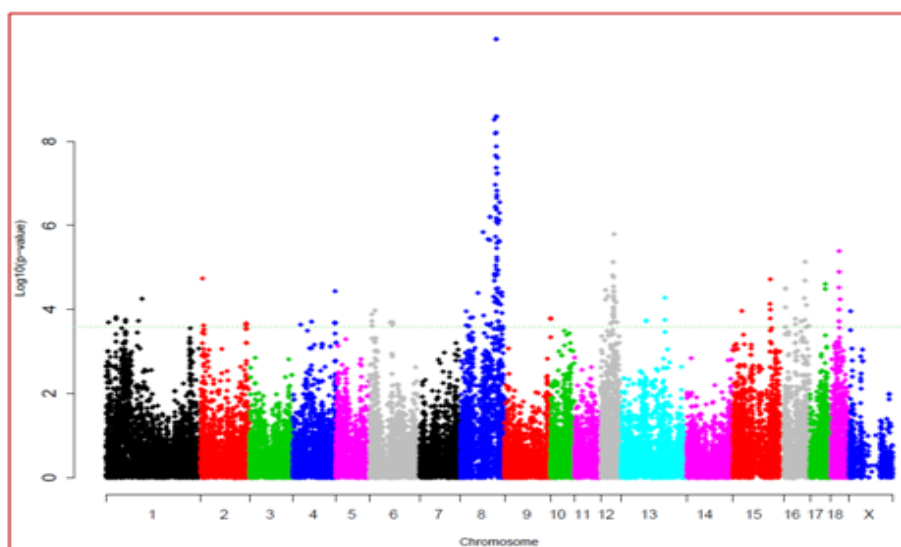


Figura 12: Manhattan plots de las regiones significativamente asociadas a nivel genómico del ratio omega6-omega3 medidos en grasa intramuscular. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

4.1.3 Análisis de asociación genómico para caracteres relacionados con la composición de ácidos grasos en grasa dorsal

El análisis de asociación se realizó con 40.565 SNPs en un total de 29 caracteres (Tabla 7) de la composición e índice metabólico de los ácidos grasos medidos en la grasa dorsal de 155 animales. Un total de 1783 SNPs dispuestos a lo largo del genoma porcino (Anexos. Tabla 14) muestran asociación estadística significativa ($q\text{-value} < 0.05$) en 12 de los 29 caracteres analizados. En los SFA, el ácido mirístico (Figura 13) muestra asociación con SNPs localizados en 12 cromosomas (SSC1, SSC2, SSC4, SSC6, SSC8, SSC9, SSC12, SSC13, SSC15, SSC16, SSC17, SSC18), también el ácido palmítico (Figura 13) muestra una marcada asociación significativa en el cromosoma SSC8 y en otras regiones cromosómicas (SSC1, SSC2, SSC4, SSC5, SSC6, SSC10, SSC11, SSC12, SSC13, SSC14, SSC15, SSC16, SSC17).

Ácido Mirístico



Ácido Palmítico

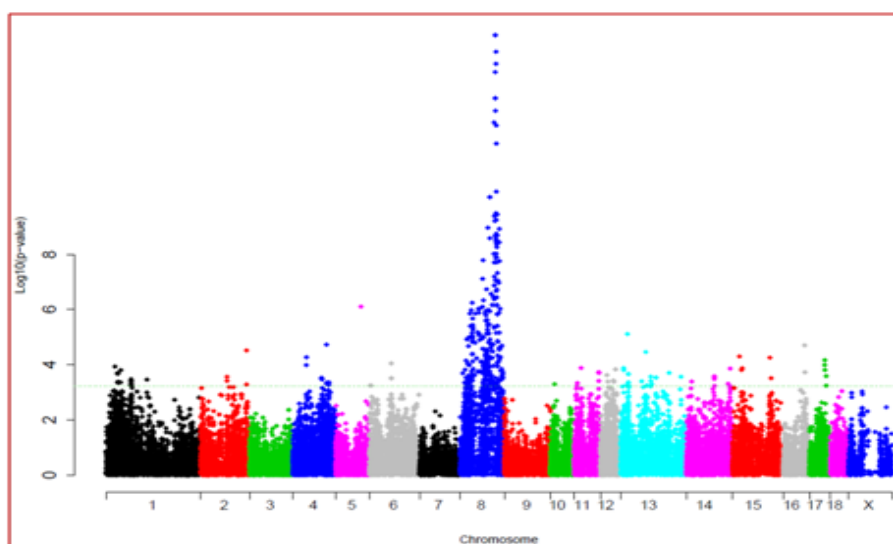
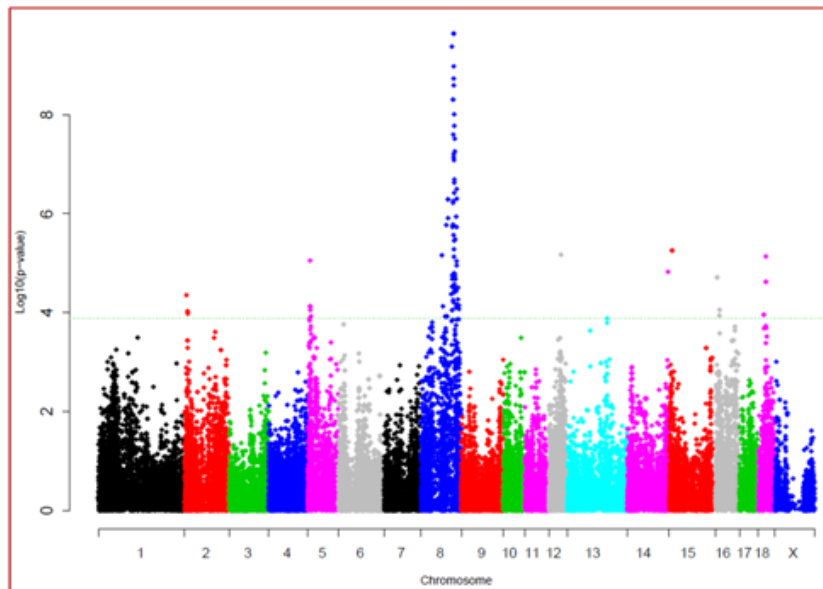


Figura 13: Manhattan plots de las regiones significativamente asociadas a nivel genómico con los caracteres de contenido y composición de ácidos grasos medidos en grasa dorsal. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

En los MUFA, destaca el ácido palmítico (Figura 14) al mostrar asociación significativa en los cromosomas SSC2, SSC5, SSC8, SSC12, SSC13, SSC14, SSC15, SSC16 y SSC18. El Ácido hexadecenoico (Figura 14) también muestra una interesante asociación con SNPs que se encuentran en los SSC2, SSC4, SSC6 y SSC17. Dentro de los PUFA, destaca el ácido linoleico (Figura 15) que presenta tres regiones

cromosómicas asociadas (SSC2, SSC4 y SSC19). El ácido eicosatrienoico (Figura 15) está asociado con SNPs localizados en 11 cromosomas (SSC1, SSC2, SSC4, SSC6, SSC7, SSC8, SSC9, SSC12, SSC13, SSC14, SSC17).

Ácido Palmítoleico



Ácido Hexadecenoico

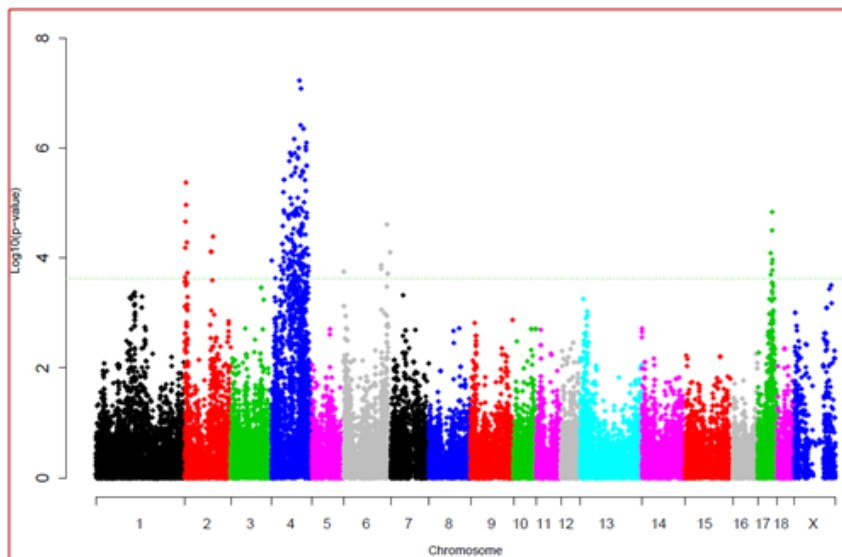
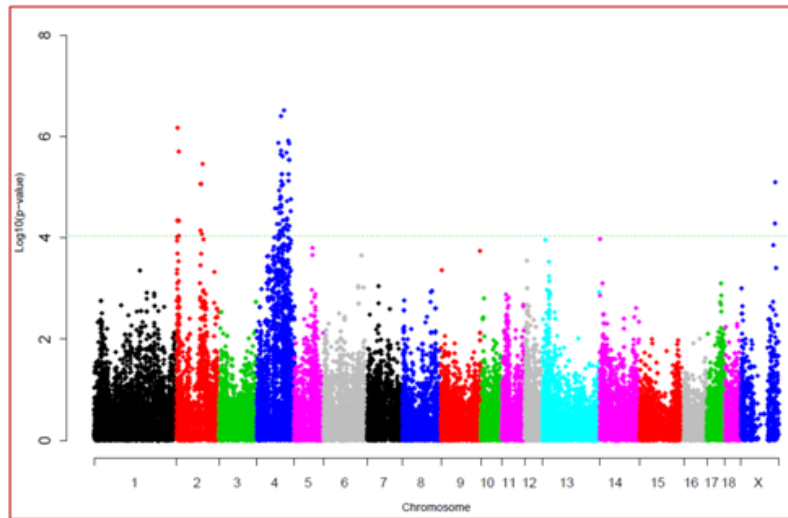


Figura 14: Manhattan plots de las regiones significativamente asociadas a nivel genómico con los caracteres de contenido y composición de ácidos grasos medidos en grasa dorsal. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

Ácido Linoleico



Ácido Eicosatrienoico

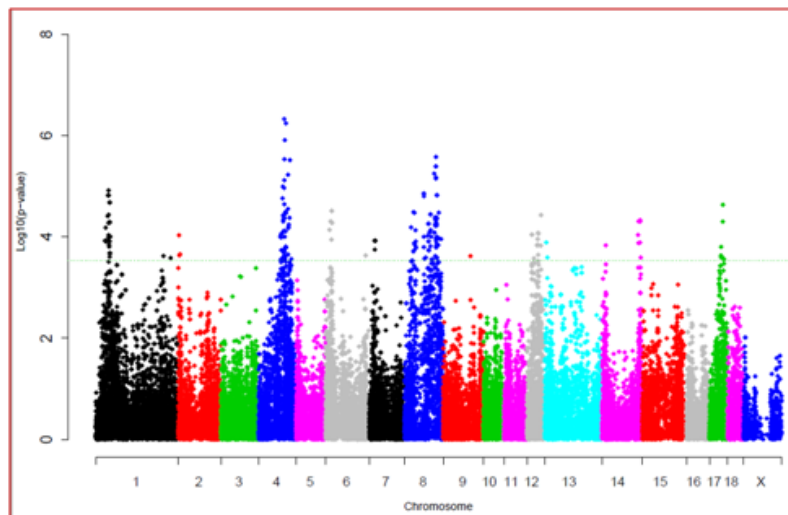


Figura 15: Manhattan plots de las regiones significativamente asociadas a nivel genómico con los caracteres de contenido y composición de ácidos grasos medidos en grasa dorsal. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

4.2 Estudio de 5 genes candidatos de los cromosomas SSC2 y SSC8 en tres poblaciones diferentes

Después de observar que las regiones de los cromosomas SSC2 y SSC8 muestran una constante asociación con los caracteres analizados, se decidió genotipar 5 polimorfismos de los genes *IGF2*, *PDHX*, *PPARGC1A*, *PLA2G12A* y *SETD7* (Tabla 10) en tres poblaciones diferentes: retrocruce Landrace (25% Ibérico y 75% Landrace),

retrocruce Duroc (25% Ibérico y 75% Duroc) y retrocruce Pietrain (25% Ibérico y 75% Pietrain). Se realizó el estudio de asociación de estos SNPs con caracteres relacionados con el crecimiento, calidad de la canal y composición de ácidos grasos, seleccionando estos caracteres basados en su relación con los genes analizados y que fueron descritos previamente por varios investigadores tanto en porcino y otros especies de interés productivo.

Tabla 10: Informativo de los SNPs genotipados en genes candidatos

Región Cromosómica	Nombre del Gen	Identificación del SNP	Ubicación dentro del gen	Posición	SNP genotipado
SSC2	<i>IGF2</i>	IBMAP_A01	Intrón 3		[G/A]
SSC2	<i>PDHX</i>	IBMAP28	5'UTR	28461768	[G/A]
SSC8	<i>PLA2G12A</i>	IBMAP33	Promotor	120566671	[T/A]
SSC8	<i>PPARGC1A</i>	IBMAP38	EXÓN 9 No Sinónima	Gen no anotado en Assembly 10.2, localizado por FISH en SSC8	[C/A]
SSC8	<i>SETD7</i>	IBMAP41	EXÓN 6 No Sinónima	931442196	[G/T]

Tabla 11: Caracteres analizados en el estudio de asociación con 5 genes candidatos

Carácter	Descripción
Caracteres de crecimiento y calidad de la canal	
CW	Peso de la canal
BELLYWT	Peso de las chuletas
HAMWT	Peso medio de ambos jamones
SHOUWT	Peso medio de ambas paletillas
BW125	Peso a los 125 días
Caracteres de la composición de ácidos grasos	
C16:0	Ácido Palmítico
C16:1(n-7)	Ácido Palmitoleico
C18:1(n-9)	Ácido Oleico
C18:2(n-6)	Ácido Linoleico
C18:3(n-3)	Ácido α -Linolénico
Σ SFA	SFA
Σ MUFA	MUFA
Σ PUFA	PUFA

4.2.1 Análisis de asociación de SNPs localizados en genes candidatos con caracteres de crecimiento y calidad de la canal

El estudio de asociación se realizó entre cinco SNPs genotipados (Tabla 10) y cinco caracteres del crecimiento y calidad de la canal (Tabla 11) de registros fenotípicos que precedían de 348 animales que pertenecen a los retrocruces Landrace, Duroc y Pietrain, como se observa en la Figura 16 el SNP del gen *IGF2* está asociado (q-valor < 0.05) con 4 de los 5 caracteres analizados (CW, BELLYWT, HAMWT y BW125). Por su parte el SNP del gen *PDHX* muestra asociación con el carácter HAMWT. El resto de los genes no muestran ninguna asociación a los caracteres analizados.

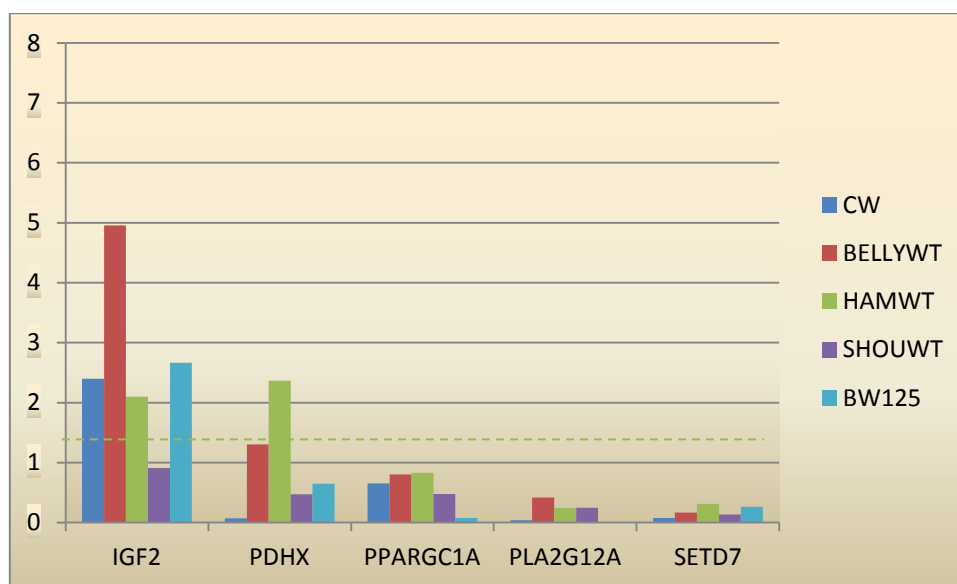


Figura 16: Estudio de asociación entre SNPs de genes candidatos y caracteres de calidad de carne significativamente asociadas. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

4.2.2 Análisis de asociación de SNPs localizados en genes candidatos con caracteres de la composición de ácidos grasos en *Longissimus dorsi*

Se han analizado 8 caracteres de la composición de ácidos grasos (Tabla 11). Sin embargo, ninguno de los SNPs de los genes candidatos muestran asociación significativa (q-valor < 0.05) con los caracteres de la composición de ácidos grasos medidos en *Longissimus dorsi*. (Figura 17).

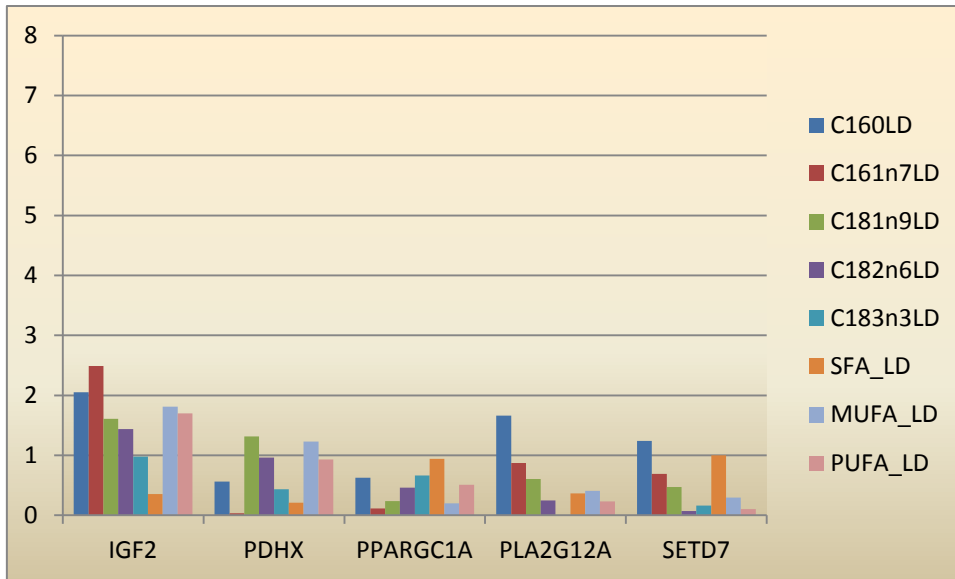


Figura 17: Estudio de asociación entre SNPs de genes candidatos y caracteres de la composición de ácidos grasos en *Longissimus dorsi*.

4.2.3 Análisis de asociación de genes candidatos con caracteres de la composición de ácidos grasos medidos en grasa dorsal

Los resultados muestran que el SNP del gen *IGF2* está asociado ($q\text{-valor} < 0.05$) con todos los caracteres analizados en grasa dorsal, excepto el ácido palmitoleico. Los SNPs de los genes *PDHX* y *PPARGC1A* no muestran ninguna asociación con estos caracteres. El SNP del gen *PLA2G12A* muestra asociación con el porcentaje del ácido palmítico y del ácido palmitoleico. En tanto el SNP del gen *SETD7* muestra asociación con el ácido palmítico (Figura 18).

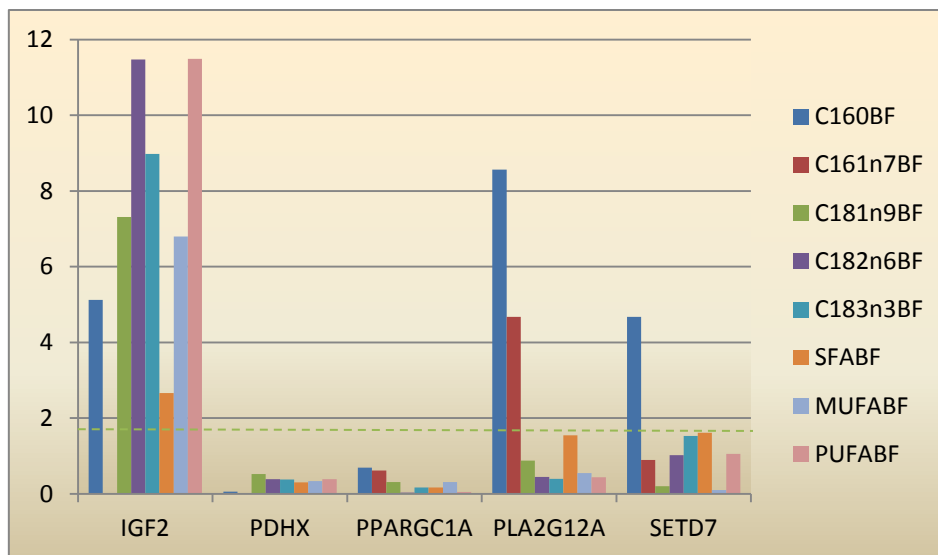


Figura 18: Estudio de asociación entre SNPs de genes candidatos y caracteres de la composición de ácidos grasos en grasa dorsal significativamente asociadas. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

4.3 Análisis de asociación de genes candidatos con caracteres relacionados con el crecimiento, la calidad de la canal y la composición de ácidos grasos en cada retrocruce

4.3.1 Análisis de asociación de 5 genes con caracteres relacionados con el crecimiento, la calidad de la canal y la composición de ácidos grasos en el retrocruce Landrace

El estudio de asociación en el retrocruce Landrace (BC1_LD) muestra que el SNP del gen *IGF2* está asociado (q-valor < 0.05) con el peso a los 125 días (Figura 19). Además, en la composición de los ácidos grasos medidos en grasa dorsal este SNP muestra asociación con los ácidos palmítico, linoleico, α linolénico y con la suma de los ácidos grasos poliinsaturados (Figura 21). El SNP del gen *PDHX* muestra asociación con ácido oleico cuando es medido en grasa dorsal. Mientras que los SNPs de los genes *PLA2G12A* y *SETD7* están asociados con los ácidos palmítico y palmitoleico tanto en *Longissimus dorsi* (Figura 20) como en grasa dorsal. Estos dos SNPs también están asociados con la SFA en *Longissimus dorsi*. Además, el SNP del gen *PLA2G12A* (Figura 21) está asociado con el ácido oleico cuando es medido en grasa dorsal.

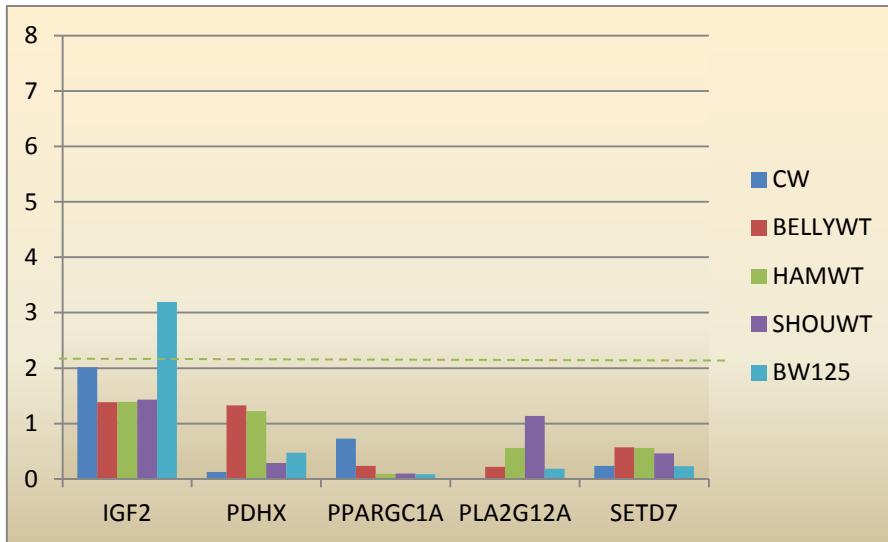


Figura 19: Estudio de asociación entre genes candidatos y caracteres de calidad de carne significativamente asociadas en el retrocruce Landrace. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

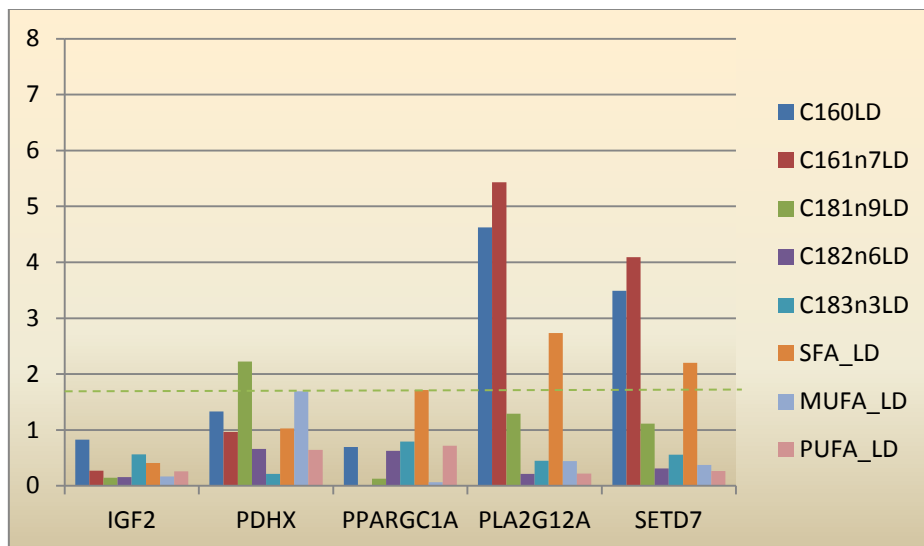


Figura 20: Estudio de asociación entre SNPs de genes candidatos y caracteres de la composición de ácidos grasos significativamente asociadas en el retrocruce Landrace en *Longissimus dorsi*. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

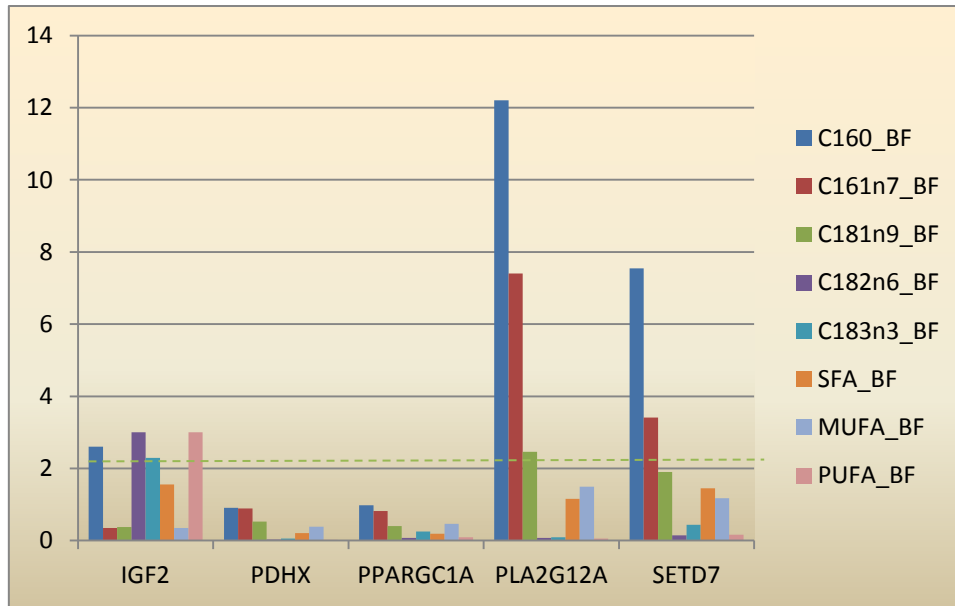


Figura 21: Estudio de asociación entre SNPs de genes candidatos y caracteres de la composición de ácidos grasos significativamente asociadas en el retrocruce Landrace en grasa dorsal. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

4.3.2 Análisis de asociación de genes candidatos con caracteres relacionados con el crecimiento, la calidad de la canal y la composición de ácidos grasos en el retrocruce Duroc

El SNP del gen *IGF2* está asociado (q-valor < 0.05) con el peso de las chuletas y con el peso a los 125 días (Figura 22). En la composición de ácidos grasos en grasa dorsal (Figura 24) muestra asociación con los ácidos palmítico, oleico, linoleico, α linolénico, MUFA y PUFA. En *Longissimus dorsi* solo se detectó asociación de este SNP con los PUFA (Figura 23).

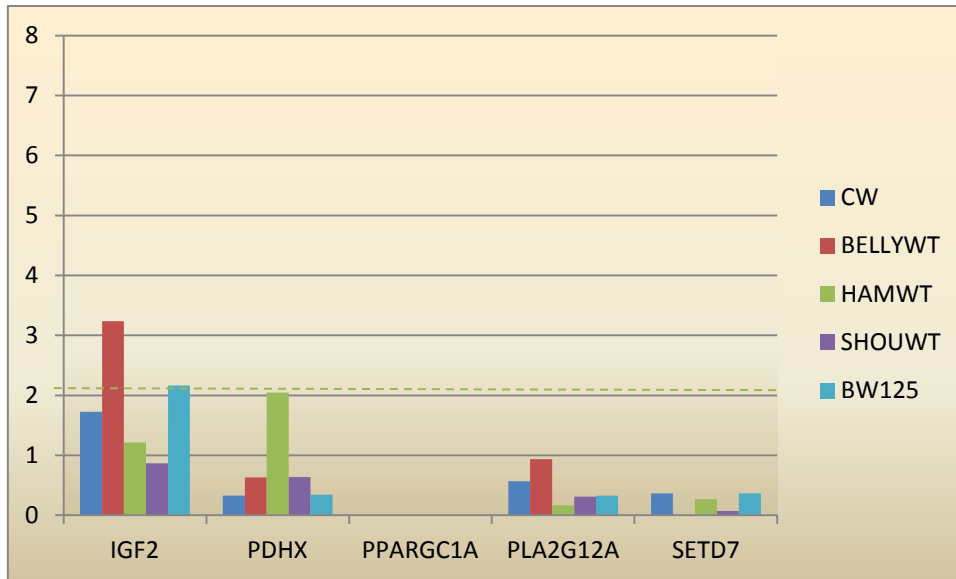


Figura 22: Estudio de asociación entre genes candidatos y caracteres de calidad de carne significativamente asociadas en el retrocruce Duroc. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

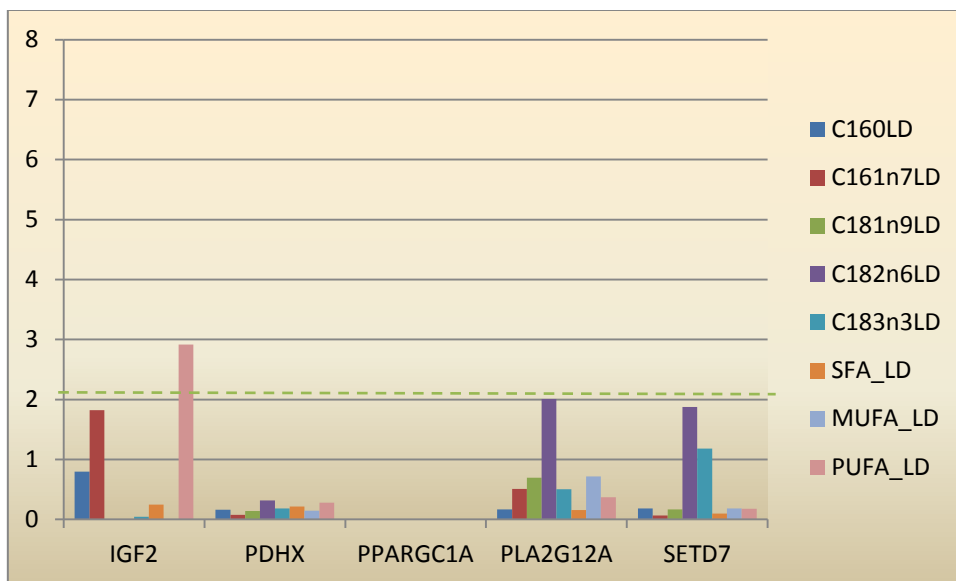


Figura 23: Estudio de asociación entre SNPs de genes candidatos y caracteres de la composición de ácidos grasos significativamente asociadas en el retrocruce Duroc en *Longissimus dorsi*. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

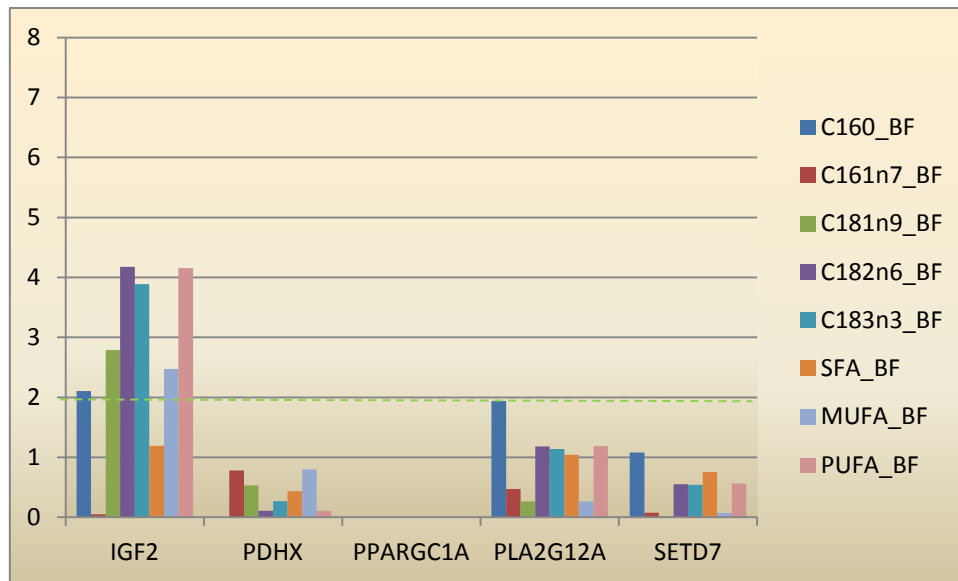


Figura 24: Estudio de asociación entre SNPs de genes candidatos y caracteres de la composición de ácidos grasos significativamente asociadas en el retrocruce Duroc en grasa dorsal. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

4.3.3 Análisis de asociación de genes candidatos con caracteres relacionados con el crecimiento, la calidad de la canal y la composición de ácidos grasos en el retrocruce Pietrain

De los 5 polimorfismos analizados en el estudio de asociación en Pietrain únicamente se observó asociación ($q\text{-valor} < 0.05$) con el SNP del gen *IGF2* que está asociado con los ácidos palmítico, oleico, linoleico, α linolénico, MUFA y PUFA medidos en grasa dorsal (Figura 27).

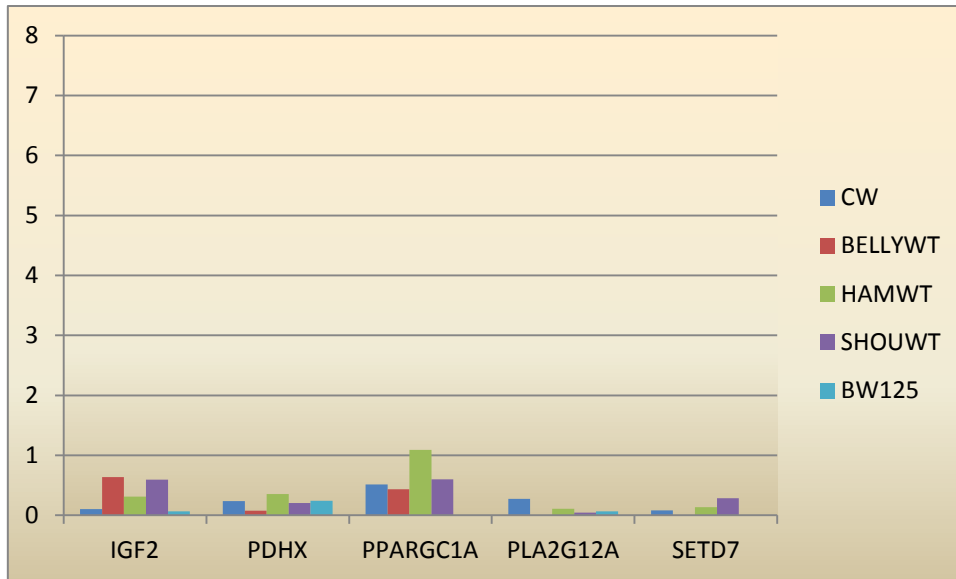


Figura 25: Estudio de asociación entre genes candidatos y caracteres de calidad de carne significativamente asociadas en el retrocruce Pietrain.

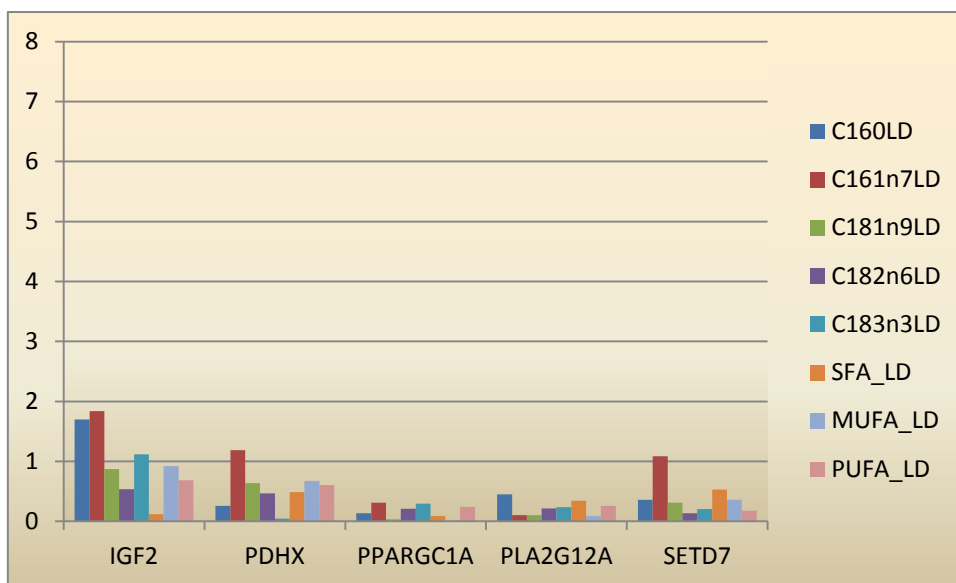


Figura 26: Estudio de asociación entre SNPs de genes candidatos y caracteres de la composición de ácidos grasos significativamente asociadas en el retrocruce Pietrain en *Longissimus dorsi*.

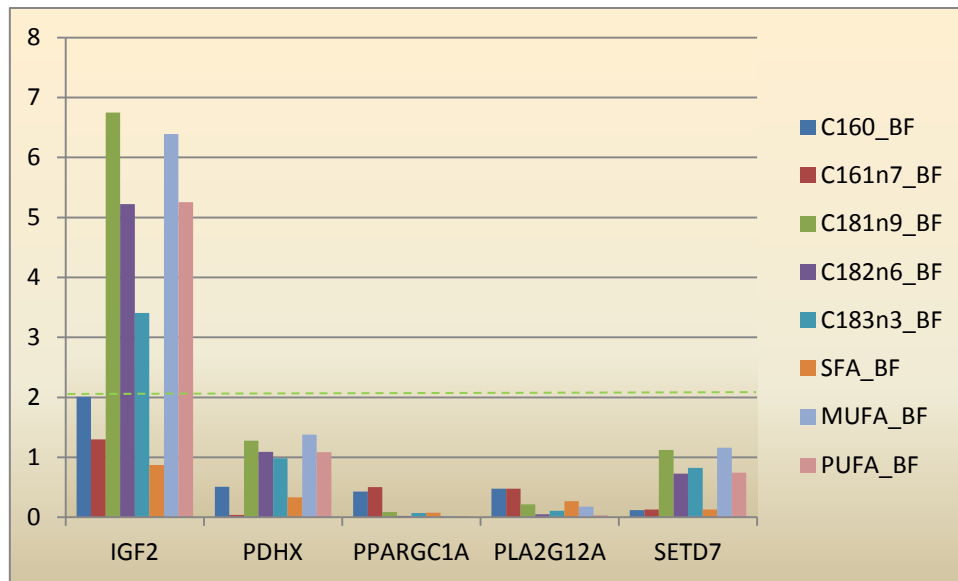


Figura 27: Estudio de asociación entre SNPs de genes candidatos y caracteres de la composición de ácidos grasos significativamente asociadas en el retrocruce Pietrain en grasa dorsal. La línea verde es el nivel de significación con un q-valor ≤ 0.05

4.4 Análisis de expresión de 5 genes candidatos en músculo

Se realizó un estudio de expresión en el músculo de 267 animales (144 animales del BC1_LD, 62 animales del BC1_DU y 61 animales del BC1_PI). Se analizó la expresión génica de los genes *IGF2*, *PDHX*, *PPARGC1*, *PLA2G12A* y *SETD7*. No se observó asociación entre los SNPs genotipados (Tabla 10) y la expresión de los genes *PDHX*, *PPARGC1* y *PLA2G12A* (q-valor < 0.05). Estos resultados sugieren que los genes analizados no están regulando la expresión de estos genes en tejido muscular.

En el estudio de asociación, el SNP del gen *IGF2* muestra asociación significativa (q-valor < 0.05) con la expresión del gen *IGF2* con un p-valor nominal de 2.25E-03 sugiriendo que el polimorfismo del gen *IGF2* que ocasiona la sustitución 3072G>A en el tercer intrón podría estar regulando la expresión de este gen.

El SNP del gen *SETD7* (Tabla 10) que se encuentra en el exón 6 (931442196 pb) está asociado (q-valor < 0.05) con la expresión del gen *SETD7* ya que presentó un p-valor nominal de 1.14E-05, sugiriendo que este polimorfismo puede tener un efecto regulador sobre la expresión del gen *SETD7*.

4.4.1 Análisis de expresión del gen *IGF2* utilizando un modelo con *imprinting*

Van Laere et al.,(2003) describió el fenómeno por el cual, la sustitución 3072G>A en el tercer intrón del gen *IGF2* altera un sitio de unión de un represor nuclear triplicando la expresión del ARNm de este en el músculo esquelético durante el crecimiento pos-natal cuando el alelo A es heredado del progenitor masculino (*imprinting maternal*). De acuerdo con el fenómeno que describe Van Laere et al., (2003) se decidió analizar este polimorfismo bajo un modelo de *imprinting* en una población de 215 animales que pertenecen a los 3 retrocruces antes analizados y de los cuales se pudo inferir el alelo heredado del padre. Los resultados del estudio de expresión del gen *IGF2* para cada retrocruce muestran diferencias significativas de expresión entre los tres retrocruces (Figura 28) siendo menor la expresión del gen *IGF2* en el retrocruce Landrace. Al analizar el efecto por genotipos (Figura 29) los animales AA muestra una mayor expresión del gen *IGF2* en músculo (p-valor=5.40E24) en comparación con el genotipo GG, mientras que los heterocigotos AG mostraron un valor intermedio. Cuando se analizó el efecto del alelo paterno, se observó una mayor expresión del gen *IGF2* (p-valor=1.48E45) en animales que habían heredado el alelo A en relación a los animales que habían recibido el alelo G (Figura 30).

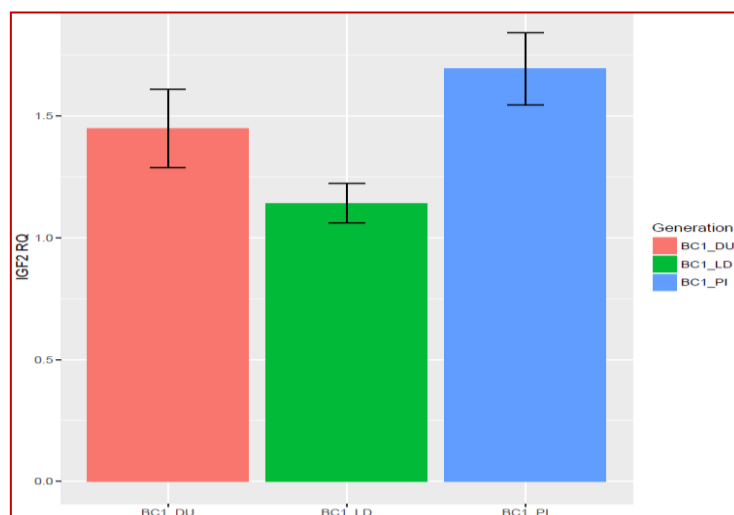


Figura 28: Efecto del retrocruce sobre la expresión del gen *IGF2*

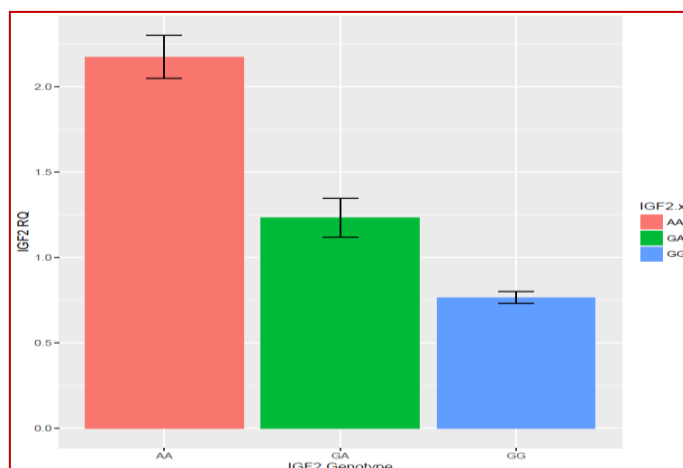


Figura 29: Efecto del genotipo sobre la expresión del gen *IGF2*

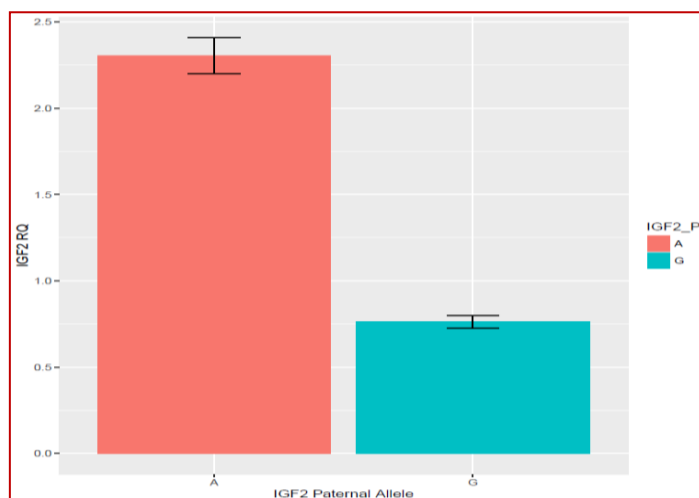


Figura 30: Efecto del alelo paterno sobre la expresión del gen *IGF2*

5. DISCUSIÓN

5.1 Concordancia posicional con otros estudios de identificación de QTLs y GWAS realizados en porcino.

Al comparar los resultados obtenidos del estudio GWAS con los de otros autores los resultados muestran similitud en las asociaciones encontradas en los caracteres de crecimiento y calidad de la canal. En la región del SSC17 asociada al carácter de longitud de la canal Sanchez *et al.*, (2014) realizó un estudio de asociación enfocado en caracteres productivos que afectan a la calidad de la carne en una población comercial de cerdos Large White y encontraron SNPs relacionados con la longitud de la canal en el SSC17.

Con respecto al carácter pH45LD, se observó una asociación estadísticamente significativa de varios SNPs en el SSC6. En otros trabajos se observaron resultados similares; Duthie *et al.*, (2011) identificaron SNPs asociados significativamente en la región del SCC6 para el carácter pH45 de las fibras musculares y Dong *et al.*, (2014) encontró varios SNPs en el SSC6 asociados para el carácter pH45LD

El estudio GWAS reveló que las regiones cromosómicas asociados con los principales ácidos grasos y ratios medidos en *Longissimus dorsi* y grasa dorsal se distribuyen ampliamente por todo el genoma porcino. Ramayo-Caldas *et al.*(2012) usó la misma población experimental para evaluar la asociación de la composición de ácidos grasos medidos en grasa intramuscular y utilizando para la localización de los SNPs las coordenadas genómicas del *Assembly 9.0*. Los resultados obtenidos para la composición de ácidos grasos en *Longissimus dorsi* son similares a los obtenidos por Ramayo-Caldas *et al.*, (2012). Así, para el ácido mirístico se observan las mismas 2 regiones cromosómicas (SSC5 y SSC17) que presentan asociación significativa para este carácter. Se coincide también, en las regiones cromosómicas donde se encontró asociación significativa con los ácidos grasos: palmítico, palmitoleico, oleico y linoleico. Sin embargo, en este estudio, al basarnos en el *Assembly 10.2* se identifican nuevas regiones cromosómicas (Tabla 12) que presentan asociación significativa con los principales ácidos grasos medidos en *Longissimus dorsi* a lo largo de los 19 cromosomas.

Tabla 12: Nuevos SNPs asociados a los principales ácidos grasos medios en *Longissimus dorsi* basados en el Assembly 10.2

Cromosoma	Carácter asociado	Numero de SNPs significativos	SNP más significativo	p-valor	q-valor
3	C161n7LD	1	ALGA0121335	2,70E-05	1,97E-02
3	C182n6LD	1	ALGA0017593	2,16E-04	3,75E-02
5	C160LD	1	ASGA0003449	6,64E-05	2,03E-02
8	C182n6LD	1	DRGA0008839	2,20E-04	3,75E-02
9	C160LD	7	ASGA0045506	2,73E-04	3,41E-02
9	C161n7LD	1	ALGA0109788	7,99E-05	3,87E-02
9	C181n9LD	1	ALGA0103650	4,45E-05	2,13E-02
9	C182n6LD	5	ALGA0054805	7,91E-05	2,93E-02
10	C182n6LD	1	ASGA0100201	3,32E-04	4,55E-02
11	C160LD	1	H3GA0031739	2,72E-04	3,41E-02
12	C160LD	1	ALGA0122685	3,00E-04	3,67E-02
12	C182n6LD	2	ASGA0055133	1,42E-04	3,48E-02
13	C181n9LD	1	DRGA0004644	9,10E-05	3,08E-02
13	C182n6LD	4	DRGA0004644	5,58E-05	2,62E-02
14	C160LD	3	ALGA0083290	2,01E-04	3,00E-02
14	C181n9LD	1	H3GA0043362	1,01E-04	3,32E-02
17	C181n9LD	1	H3GA0049700	2,96E-05	1,49E-02
17	C182n6LD	1	ASGA0105916	2,12E-04	3,75E-02
18	C140LD	1	ALGA0097148	5,34E-07	7,16E-03
18	C161n7LD	2	ALGA0097840	3,47E-05	2,27E-02

Los resultados obtenidos en el GWAS para la composición de ácidos grasos en grasa dorsal concuerdan con los publicados por Muñoz *et al.*, (2013) en el mismo material animal. En este trabajo se identificaron SNPs asociados con la composición de ácidos grasos en grasa dorsal en los cromosomas SSC1, SSC4, SSC6, SSC8, SSC11, SSC12, SSC13, SSC14, SSC15, SSC16 y SSC18. De los resultados obtenidos destaca la asociación encontrada en el cromosoma SSC8, tanto para la composición de ácidos grasos y ratios metabólicos en músculo (Palmítico, Palmitoleico, Linoleico, SFA, MUFA, Palmitoleico/Palmítico, Oleico/Palmitoleico y Eicosatrienoico/Linoleico) como en grasa dorsal (Mirístico, Palmítico, Palmitoleico, Eicosatrienoico, Octadecenoico/Palmitoleico y Eicosatrienoico/Linoleico). Corominas *et al.*, (2013), estudió un polimorfismo del gen *ELOVL6* como candidato posicional con efecto en la composición de ácidos grasos en cerdos, en el estudio de asociación identificó a la región del cromosoma SSC8 como asociada significativamente a los ácidos grasos palmítico y palmitoleico en músculo y en grasa dorsal.

En otro estudio, (Revilla *et al.*, 2014), realizado en la generación F2 del material IBMAP con 470 animales y medidas de la composición de ácidos grasos en grasa dorsal, se analizó con detalle el cromosoma SSC8. En este trabajo se encontraron

asociaciones significativas para los ácidos grasos saturados mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0). Entre los ácidos grasos monoinsaturados, se encontró asociación con el ácido palmitoleico (C16:1(n-7)) y el ácido oleico (C18: 1 (n-9)), mientras que para los PUFA el único que fue significativo fue el ácido eicosadienoico (C20:2(n-6)). También se encontró una fuerte asociación en los ratio C16:1(n-7)/C16:0 y C18:1(n-7)/C16:1(n-7). Estos resultados coinciden en su mayoría con los que se encontraron en la presente investigación pero difieren con los resultados encontrados en los ácidos grasos esteárico, oleico y el ratio C16:1(n-7)/C16:0 medidos en grasa dorsal, donde no se observó ninguna asociación significativa en la región del cromosoma SSC8. Las diferencias entre estudios pueden deberse al diferente número de animales utilizado (155 *versus* 470) ya que fue realizado en diferentes generaciones del cruce IBMAP.

5.2 Efecto de los 5 SNPs sobre caracteres de interés económico

En los estudios de asociación de 5 SNPs de los genes candidatos posicionales *IGF2*, *PDHX*, *PPARGCIA*, *PLA2G12A* y *SETD7* con los caracteres de crecimiento y calidad de la canal en el que se tuvo en cuenta 348 animales, para la composición de ácidos grasos medidos en *Longissimus dorsi* se contó con 408 animales y medidos en la grasa dorsal los registros fenotípicos procedían de 448 animales que pertenecen a los retrocruces Landrace, Duroc y Pietrain, donde se encontraron los siguientes resultados. Para el SNP del gen *PPARGCIA* no se observó ningún efecto significativo con los caracteres analizados. Resultados similares encontraron Soria *et al.*, (2007), que estudiaron el gen *PPARGCIA* como gen candidato para la terneza y el contenido de grasa e identificaron dos polimorfismos en el exón 8 que fueron genotipados en una población de 243 animales. En sus resultados no encontraron efecto de estos SNPs sobre caracteres de la calidad de la carne y el contenido graso. En otras especies como en bovinos este gen ha sido estudiado como gen candidato para la terneza y el contenido de grasa. Branda *et al.*, (2011) analizaron dos polimorfismos (exón 8:G/A, e intrón 9:C/T) en el gen bovino *PPARGCIA*, para el estudio de asociación se utilizaron 91 animales con registros fenotípicos de la calidad de la carne y el contenido de grasa intramuscular, en sus resultados, no encontraron ninguna asociación significativa entre los SNPs y los caracteres analizados.

El gen *PDHX* que codifica una enzima del metabolismo de la glucosa y ha sido relacionado con el metabolismo de los lípidos en músculo. En el estudio de asociación el SNP genotipado en este gen presentó un efecto significativo sobre el carácter HAMWT cuando se evaluó de forma conjunta en las 3 poblaciones. También se observó asociación con el ácido oleico en *Longissimus dorsi* al analizar el retrocruce Landrace. Este gen ha sido estudiado en especies como los pollos de engorde como posible gen implicado en el crecimiento muscular y el engorde. Zheng *et al.*, (2009) estudió los perfiles de expresión del gen *PDHX* en el músculo de pollos de engorde, los cuales se correlacionaron positivamente con las tasas de crecimiento y con el metabolismo de los lípidos en músculo.

El polimorfismo del gen *PLA2G12A* mostró asociación con el contenido de ácido palmítico y palmitoleico al analizar los 3 retrocruces en conjunto en grasa dorsal. Esta asociación también se observó en el retrocruce Landrace, donde el nivel de significación es mayor tanto en *Longissimus dorsi* como en grasa dorsal. Este SNP también mostró asociación con SFA en *Longissimus dorsi* y al ácido oleico en grasa dorsal.

Ninguno de los tres polimorfismos de los genes *PPARGCIA*, *PDHX* y *PLA2G12A* mostraron asociación con la expresión en músculo de estos mismos genes, lo que podría indicar que no hay variantes segregando en el material animal analizado que actúen en CIS sobre la expresión de estos genes o bien que no se han genotipado los SNPs causales.

El gen *SETD7* está implicado en el mantenimiento de los patrones de metilación del ADN en las divisiones celulares (Estève *et al.*, 2009). En el análisis conjunto de los tres retrocruces se observó que el polimorfismo del gen *SETD7* está asociado con la composición de ácido palmítico en grasa dorsal. En el retrocruce Landrace se observó asociación para los ácidos palmíticos y palmitoleico en *Longissimus dorsi* y en grasa dorsal. Estos resultados se contraponen a los encontrados por Revilla *et al.*, (2014) quien identificó 9 SNPs y genotipo 2 polimorfismos en el gen *SETD7*, uno de estos SNPs es el que se analiza en la presente investigación (*Exón6 931442196 [G/T]*) y no se encontró ninguna asociación significativa entre el marcador microsatélite del gen *SETD7* y la composición de ácidos grasos en grasa dorsal. En el mismo trabajo, se realizó un estudio de expresión del gen *SETD7* en hígado y tejido adiposo, los

resultados no mostraron asociación de los polimorfismos analizados con la expresión de este gen. Sin embargo, en el estudio de expresión realizado en el presente trabajo en tejido muscular, el SNP del gen *SETD7* muestra asociación significativa con la expresión de este gen.

En resumen, el polimorfismo encontrado en el gen *SETD7* está asociado con la composición de los ácidos palmítico y palmitoleico en músculo y tejido adiposo y con la expresión del gen *SETD7* en músculo y está puede determinar las diferencias en composición de ácidos grasos observadas.

A partir de la primera identificación del gen *IGF2* en el cromosoma SSC2 como responsable del QTL para la masa muscular y la deposición de grasa (Van Laere et al. 2003), se han realizado varios trabajos en torno al gen *IGF2* para intentar determinar si las asociaciones que se detectan se deben al efecto del polimorfismo del gen *IGF2* o a otras variantes genéticas próximas. En la presente investigación, al analizar los 3 retrocruces conjuntamente, el polimorfismo del gen *IGF2* mostró asociación con 4 de los 5 caracteres de crecimiento y calidad de la canal (CW, BELLYWT, HAMWT y BW125). En una comunicación presentada por Fernández *et al.*, (2006), se verificaron los efectos de la sustitución de *IGF2:g.3072G>A* y su modo de herencia sobre caracteres de calidad de carne y grasa en una población de cerdos que proceden de un cruce Landrace x Sintetica Chino Europea. En el análisis del efecto de la mutación con expresión partena, confirmaron el efecto positivo del alelo parteno A sobre el peso de paletas y jamones. Además, Rohrer *et al.*, (2012) estudió la asociación entre 156 SNPs de 45 genes candidatos y caracteres de la calidad de la carne de registros que proceden de una población de cerdos Landrace y Duroc. En los resultados encontraron asociaciones entre el SNP del gen *IGF2* y los caracteres de la calidad de la carne por lo que concluyen que uno de los genes con mayor efecto sobre la calidad de la carne de cerdo es el gen *IGF2*. Al analizar el retrocruce Landrace, este SNP también mostró asociación con los caracteres CW y BW125. Estas asociaciones fueron reportadas antes por Estellé *et al.*, (2005), quien evaluó el efecto del SNP *intron3-G307A* en una población comercial de Large White y en una familia de la generación F2 del IBMAP y demostró que la sustitución de *IGF2* presenta un efecto significativo para los caracteres analizados, entre ellos CW y HAMWT. Fontanesi *et al.*, (2010) analizó una población de cerdos Duroc, encontrando un efecto significativo del polimorfismo del gen *IGF2* sobre caracteres de calidad de carne, similares a los obtenidos en este estudio al analizar

el retrocruce Duroc, donde se encontró asociación de este SNP a los caracteres de BELLYWT y BW125.

Fassa *et al.* (2015) estudió la asociación de 5 genes y observó que el polimorfismo del gen *IGF2* está asociado a caracteres de crecimiento y a la composición de ácidos grasos. En otro estudio (Aslan *et al.*, 2012), se sugiere que la variación genética en la región promotora del gen *IGF2* se asocia con el contenido de grasa en el músculo esquelético porcino y que una mayor expresión del gen *IGF2* se asocia con mayor contenido de grasa intramuscular. En el presente trabajo, el SNP del gen *IGF2* está asociado con el ácido palmítico y palmitoleico en *Longissimus dorsi* al evaluar los 3 retrocruces en conjunto. En grasa dorsal también se registra estas dos asociaciones al evaluar los 3 retrocruces en conjunto y también se observa asociación significativa a los ácidos oleico, linoleico, α -linolénico, MUFA, SFA y PUFA. Al evaluar el retrocruce Landrace, el SNP del gen *IGF2* mostró asociación con los ácidos palmítico, palmitoleico, α -linolénico y los PUFA en grasa dorsal. Al analizar los retrocruces Duroc y Pietrain, se observa que este polimorfismo está asociado con los ácidos grasos palmítico, oleico, linoleico, α -linolénico, MUFA y PUFA en grasa dorsal. Hong *et al.*, (2015) realizó un estudio sobre el efecto de variantes genéticas del cerdo de 5 genes (*FABP3*, *HMGAI*, *MC4R*, *IGF-2*, y *FABP4*) en un población de raza Duroc con la composición de ácidos grasos en *Longissimus dorsi*, en los resultados encontrados, ratificaron la asociación del gen *IGF2* con la composición de los ácidos grasos esteárico, palmítico y linoleico.

En el estudio de expresión del gen *IGF2* se observó asociación significativa del SNP *IGF2:g.3072G>A* utilizando un modelo aditivo. De acuerdo con el mecanismo de expresión de este gen, se decidió realizar también un análisis bajo un modelo de *imprinting* materno. Los resultados bajo este modelo mostraron diferencias significativas de expresión de este gen entre retrocruces, siendo mayor la expresión en los retrocruces Duroc y Pietrain y en el retrocruce Landrace. Amaya *et al.*, (2005) estudió la expresión del gen *IGF2* en músculo durante el desarrollo de los cerdos de cinco razas diferentes y en sus resultados sugirió que el gen *IGF2* tiene mayor nivel de expresión en la raza Duroc.

Al clasificar los animales por genotipo del gen *IGF2* se observó que en los animales de genotipo AA la expresión del gen *IGF2* es mayor que en los genotipos GA

y GG. Finalmente, aquellos individuos que heredaron el alelo A por parte del padre presentan una mayor expresión del gen *IGF2* (1.48E45) con respecto a los que recibieron el alelo G.

Por lo tanto, el polimorfismo del gen *IGF2* está asociado con caracteres de crecimiento, la composición de ácidos grasos en *Longissimus dorsi* y en grasa dorsal y la propia expresión del gen *IGF2* en músculo. Por lo tanto, el polimorfismo del gen *IGF2* al actuar sobre la expresión del gen puede explicar las diferencias fenotípicas que se observan.

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

- 1) Un GWAS, realizado con el panel de alta densidad de SNPs *PorcineSNP60 Bead-Chip* para caracteres relacionados con el crecimiento y calidad de la canal, ha permitido identificar asociaciones significativas a nivel cromosómico para los caracteres de longitud de la canal (SSC1 y SSC17) y pH45LD (SSC6).
- 2) En un GWAS para la composición de ácidos grasos se identificaron nuevas regiones significativamente asociadas con los ácidos grasos Mirístico, Palmítico, Palmitoleico, Oleico y Linoleico, medidos en la grasa intramuscular y en la grasa dorsal. Además, para el ratio omega6 omega3 se detectó una asociación significativa en el cromosoma SSC18.
- 3) El SNP del gen *PPARGCIA* fue genotipado en 3 poblaciones diferentes no mostró ninguna asociación significativa con los caracteres analizados y tampoco se encontró asociación entre la expresión de este gen en tejido muscular y el SNP genotipado.
- 4) Los SNPs de los genes *PDHX* y *PLA2G12A* están asociados significativamente con la composición de ácidos grasos en grasa intramuscular y grasa dorsal. Sin embargo, no se encontró asociación entre la expresión de estos genes en músculo y los genotipos de los SNPs *PDHX* y *PLA2G12A*, lo que sugiere que el efecto de estos SNPs sobre la composición de ácidos grasos no está determinado por diferencias en la transcripción de estos genes.
- 5) El genotipo del SNP del gen *SETD7* está asociado significativamente con el contenido de los ácidos palmítico y palmitoleico en grasa intramuscular y dorsal. También se encontró asociación entre la expresión del gen *SETD7* y el genotipo del SNP de *SETD7*. Estos resultados sugieren que el polimorfismo estudiado es la variante causal del QTL o está fuertemente asociado al mismo.
- 6) La sustitución del *intron3- G3072A* del gen *IGF2* y el alelo A paternalmente heredado tienen un efecto importante sobre caracteres de crecimiento y calidad de la canal (CW, BELLYWT, HAMWT y BW125) y en la composición de los

ácidos grasos (palmítico, palmitoleico, oleico, linoleico, α linolénico, SFA, MUFA y PUFA) en grasa intramuscular y dorsal. Además regula la expresión del gen *IGF2* en músculo, lo que sugiere que este polimorfismo podría determinar el QTL responsable de las diferencias fenotípicas observadas y que dicho efecto es más evidente cuando el gen *IGF2* es testado en un modelo de *imprinting* que en un modelo aditivo.

7. ANEXOS

Tabla 13: Regiones genómicas asociadas significativamente a la composición de ácidos grasos en *Longissimus dorsi*

Cromosoma	Carácter asociado	Número de SNPs significativos	SNP más significativo	p-valor	q-valor
1	C160LD	215	DIAS0001072	9,13E-06	7,06E-03
	C181n9LD	1	ALGA0006048	9,41E-05	3,15E-02
	C182n6LD	45	H3GA0002118	1,03E-05	1,45E-02
	SFA_LD	75	ASGA0003001	5,78E-07	7,19E-03
	MUFA_LD	2	ALGA0006048	2,13E-04	3,89E-02
	PUFA_LD	4	ALGA0006048	1,40E-05	2,25E-02
	UI_LD	35	INRA0002909	4,64E-06	1,09E-02
	MUFA_PUFA_LD	3	ALGA0006048	1,08E-05	1,70E-02
	PUFA_SFA_LD	8	ASGA0004641	9,44E-06	3,43E-02
	C203n6_C182n6_LD	1100	ASGA0001746	2,37E-06	1,53E-02
2	C160LD	12	ALGA0012481	9,86E-07	4,12E-03
	SFA_LD	4	ALGA0012481	7,25E-05	2,70E-02
	MUFA_SFA_LD	1	M1GA0003271	6,75E-05	3,06E-02
	C203n6_C182n6_LD	430	ALGA0123968	5,69E-05	1,71E-02
3	C161n7LD	1	ALGA0121335	2,70E-05	1,97E-02
	C182n6LD	1	ALGA0017593	2,16E-04	3,75E-02
	SFA_LD	5	ALGA0124488	1,00E-04	2,93E-02
	MUFA_LD	3	ALGA0119730	2,92E-04	4,78E-02
	UI_LD	1	ALGA0017593	4,67E-05	2,58E-02
	PUFA_SFA_LD	1	ALGA0017593	3,46E-05	4,44E-02
	C181_C161_LD	1	ALGA0020153	3,54E-05	4,81E-02
	C203n6_C182n6_LD	314	M1GA0004980	4,86E-05	1,71E-02
4	C160LD	6	MARC0059813	1,30E-04	2,43E-02
	C161n7LD	37	ALGA0029186	8,97E-08	4,34E-04
	C181n9LD	44	MARC0022418	1,30E-05	1,06E-02
	C182n6LD	192	MARC0017785	2,59E-07	5,18E-03
	C204n6LD	2	MARC0005194	2,47E-05	4,59E-02
	SFA_LD	4	ASGA0021882	5,61E-05	2,56E-02
	MUFA_LD	129	MARC0017785	2,41E-06	2,91E-03
	PUFA_LD	50	MARC0017785	5,35E-07	1,07E-02
	UI_LD	1	MARC0059813	8,36E-05	3,95E-02
	MUFA_PUFA_LD	50	MARC0017785	1,99E-07	4,00E-03
	PUFA_SFA_LD	26	MARC0017785	2,75E-06	2,80E-02
	MUFA_SFA_LD	13	ALGA0026566	2,46E-05	1,62E-02
	C161_C160_LD	2	ALGA0029186	3,06E-06	3,86E-02
	C181n9_C180_LD	1	DIAS0000961	4,25E-05	4,92E-02
	C181_C161_LD	2	H3GA0013315	6,17E-06	1,65E-02
	C203n6_C182n6_LD	449	ALGA0116097	2,61E-05	1,71E-02
5	C140LD	4	ALGA0031433	1,28E-05	3,75E-02
	C160LD	1	ASGA0003449	6,64E-05	2,03E-02
	C161n7LD	2	ALGA0032946	7,44E-05	3,69E-02
	SFA_LD	1	ASGA0003449	2,79E-05	1,48E-02
	UI_LD	1	ASGA0003449	2,82E-05	1,98E-02
	C203n6_C182n6_LD	185	ASGA0086192	6,03E-04	1,71E-02
6	C161n7LD	2	ASGA0094634	5,22E-06	6,52E-03
	C181n9LD	13	ASGA0101699	1,18E-06	5,71E-03
	C182n6LD	6	ALGA0107143	9,25E-05	2,97E-02
	MUFA_LD	17	MARC0055894	1,47E-06	2,90E-03
	MUFA_SFA_LD	19	ASGA0102005	2,29E-07	1,83E-03
	C203n6_C182n6_LD	451	ASGA0029628	8,32E-05	1,71E-02
7	C182n6LD	5	ALGA0045598	1,70E-04	3,70E-02
	SFA_LD	1	ASGA0058580	8,09E-05	2,70E-02
	MUFA_LD	6	ALGA0045598	3,14E-05	1,31E-02
	UI_LD	1	ASGA0058580	2,79E-05	1,98E-02

	C203n6_C182n6_LD	359	ASGA0058580	4,70E-06	1,53E-02
8	C160LD	63	H3GA0025321	6,30E-09	1,19E-04
	C161n7LD	42	ALGA0049202	4,73E-09	1,39E-04
	C182n6LD	1	DRGA0008839	2,20E-04	3,75E-02
	SFA_LD	34	ASGA0096165	7,64E-07	7,19E-03
	MUFA_LD	1	DRGA0008839	2,71E-04	4,57E-02
	UI_LD	4	DRGA0008319	2,48E-05	1,98E-02
	C161_C160_LD	4	ALGA0049202	3,16E-06	3,86E-02
	C181_C161_LD	23	H3GA0025321	3,72E-08	7,33E-04
	C203n6_C182n6_LD	281	ASGA0037686	1,29E-05	1,71E-02
9	C160LD	7	ASGA0045506	2,73E-04	3,41E-02
	C161n7LD	1	ALGA0109788	7,99E-05	3,87E-02
	C181n9LD	1	ALGA0103650	4,45E-05	2,13E-02
	C182n6LD	5	ALGA0054805	7,91E-05	2,93E-02
	SFA_LD	4	ASGA0041324	3,41E-05	1,72E-02
	MUFA_LD	1	ALGA0103650	6,63E-05	1,96E-02
	MUFA_PUFA_LD	1	ALGA0054805	5,24E-05	4,12E-02
	C203n6_C182n6_LD	419	MARC0106322	1,00E-04	1,71E-02
10	C182n6LD	1	ASGA0100201	3,32E-04	4,55E-02
	MUFA_LD	1	ALGA0056598	1,26E-04	3,07E-02
	C203n6_C182n6_LD	133	ALGA0116230	6,16E-04	1,71E-02
11	C160LD	1	H3GA0031739	2,72E-04	3,41E-02
	C181n9LD	67	ASGA0049662	6,43E-06	7,02E-03
	C182n6LD	5	MARC0085235	3,05E-04	4,29E-02
	C204n6LD	18	ASGA0049662	2,33E-05	4,59E-02
	SFA_LD	1	ALGA0060793	6,45E-05	2,61E-02
	MUFA_LD	78	ASGA0049662	1,97E-06	2,90E-03
	MUFA_SFA_LD	77	MARC0011099	5,65E-07	1,96E-03
	C181n9_C180_LD	38	H3GA0031108	2,71E-06	3,53E-02
	C203n6_C182n6_LD	287	ASGA0049928	1,61E-05	1,71E-02
12	C160LD	1	ALGA0122685	3,00E-04	3,67E-02
	C182n6LD	2	ASGA0055133	1,42E-04	3,48E-02
	C203n6_C182n6_LD	122	H3GA0033256	6,74E-04	1,71E-02
13	C160LD	12	ALGA0068887	3,11E-05	1,17E-02
	C181n9LD	1	DRGA0004644	9,10E-05	3,08E-02
	C182n6LD	4	DRGA0004644	5,58E-05	2,62E-02
	C204n6LD	3	ALGA0123728	2,17E-05	4,59E-02
	SFA_LD	106	MARC0089159	6,74E-06	1,09E-02
	MUFA_LD	2	DRGA0004644	1,92E-05	8,86E-03
	PUFA_LD	1	MARC0024286	5,84E-05	4,11E-02
	UI_LD	48	CASI0008561	9,99E-07	7,84E-03
	MUFA_SFA_LD	1	ALGA0071568	8,03E-05	3,55E-02
	C203n6_C182n6_LD	770	DRGA0012733	4,70E-06	1,53E-02
14	C160LD	3	ALGA0083290	2,01E-04	3,00E-02
	C181n9LD	1	H3GA0043362	1,01E-04	3,32E-02
	C182n6LD	51	M1GA0018039	5,74E-06	1,15E-02
	C204n6LD	1	ASGA0061866	2,51E-05	4,59E-02
	SFA_LD	3	ASGA0062747	1,39E-04	2,95E-02
	MUFA_LD	3	H3GA0043362	5,64E-05	1,84E-02
	PUFA_LD	7	ALGA0074348	1,42E-05	2,25E-02
	UI_LD	5	ALGA0074348	2,42E-05	1,98E-02
	MUFA_PUFA_LD	4	ALGA0075011	3,73E-05	3,23E-02
	PUFA_SFA_LD	4	ALGA0074348	6,48E-06	2,88E-02
	MUFA_SFA_LD	1	H3GA0043362	1,18E-05	8,18E-03
	C203n6_C182n6_LD	337	ASGA0067065	4,07E-04	1,71E-02
15	C160LD	13	ALGA0111611	3,54E-06	7,06E-03
	C161n7LD	2	MARC0042106	1,10E-04	4,78E-02
	SFA_LD	1	ALGA0111611	1,00E-04	2,93E-02

	MUFA_LD	3	ALGA0086873	1,74E-04	3,48E-02
	MUFA_SFA_LD	1	ALGA0086873	1,23E-05	8,38E-03
	C181_C161_LD	1	H3GA0044096	1,02E-05	2,23E-02
	C203n6_C182n6_LD	350	DIAS0004537	4,82E-06	1,53E-02
16	C182n6LD	3	ASGA0085192	1,36E-04	3,46E-02
	C203n6_C182n6_LD	140	MARC0058740	2,99E-05	1,71E-02
17	C140LD	9	ALGA0094522	5,65E-07	7,16E-03
	C160LD	17	ASGA0076300	1,63E-05	8,29E-03
	C181n9LD	1	H3GA0049700	2,96E-05	1,49E-02
	C182n6LD	1	ASGA0105916	2,12E-04	3,75E-02
	MUFA_LD	1	H3GA0049700	4,84E-05	1,80E-02
	C181_C161_LD	2	H3GA0049069	3,40E-06	1,34E-02
	C203n6_C182n6_LD	213	ASGA0077916	8,68E-05	1,71E-02
18	C140LD	1	ALGA0097148	5,34E-07	7,16E-03
	C160LD	5	ASGA0078979	1,78E-04	2,81E-02
	C161n7LD	2	ALGA0097840	3,47E-05	2,27E-02
	C182n6_C183n3_LD	7	SIRI0000861	2,30E-06	3,33E-02
	C203n6_C182n6_LD	87	ASGA0087213	7,38E-04	1,71E-02
	w6_w3_LD	7	SIRI0000861	1,74E-06	2,70E-02

Tabla 14: Regiones genómicas asociadas significativamente a la composición de ácidos grasos en grasa dorsal

Cromosoma	Carácter asociado	Número de SNPs significativos	SNP más significativo	p-valor	q-valor
1	C140_BF	7	ASGA0004202	5,59E-05	2,31E-02
	C160GD	39	DIAS0002980	1,17E-04	1,93E-02
	C203n9GD	44	INRA0002006	1,21E-05	2,29E-02
	C201_C200GD	1	ASGA0046605	1,25E-04	2,97E-02
	C203n6_C182n6_BF	1	ALGA0114758	2,30E-05	3,52E-02
2	C140_BF	6	ALGA0114758	1,83E-05	1,13E-02
	C160GD	4	ASGA0012719	3,04E-05	7,00E-03
	C161n9GD	11	H3GA0005630	4,25E-06	5,41E-03
	C161n7GD	5	ALGA0114758	4,45E-05	2,35E-02
	C182n6GD	12	H3GA0005630	6,75E-07	8,74E-03
	C203n9GD	3	H3GA0005547	9,35E-05	3,22E-02
	PUFAGD	10	H3GA0005630	8,55E-07	9,98E-03
	MUFA_PUFAGD	10	H3GA0005630	6,63E-07	3,94E-03
	C201_C200GD	3	ASGA0009589	1,80E-04	4,01E-02
	C181n7_C161n7_BF	1	ALGA0016849	2,48E-04	5,00E-02
3	C201_C200GD	1	DIAS0001132	1,96E-04	4,22E-02
4	C140_BF	16	CASI0005790	3,69E-05	1,81E-02
	C160GD	13	CASI0008264	1,87E-05	4,63E-03
	C161n9GD	161	ASGA0083606	5,90E-08	1,63E-03
	C181n9GD	1	H3GA0014048	4,81E-06	4,92E-02
	C182n6GD	60	H3GA0013583	3,05E-07	7,75E-03
	C203n9GD	60	DBWU0000459	4,73E-07	1,08E-02
	PUFAGD	47	H3GA0013583	4,17E-07	9,98E-03
	MUFA_PUFAGD	52	H3GA0013583	1,96E-07	3,94E-03
	C181n7_C161n7_BF	27	ASGA0021461	3,18E-07	3,23E-04
	C203n6_C182n6_BF	3	MARC0041946	5,03E-05	3,96E-02
5	C160GD	1	DRGA0008687	7,82E-07	4,18E-04
	C161n7GD	6	ALGA0030257	8,89E-06	7,69E-03

	MUFA_PUFAGD	1	M1GA0007896	7,63E-05	4,72E-02
	C201_C200GD	1	H3GA0055240	1,72E-04	3,90E-02
	C181n7_C161n7_BF	1	DRGA0008687	2,24E-04	4,78E-02
6	C140_BF	14	ALGA0116172	1,06E-04	3,62E-02
	C160GD	5	MARC0051153	8,94E-05	1,63E-02
	C161n9GD	7	ALGA0037714	2,46E-05	1,45E-02
	C203n9GD	8	ALGA0034947	3,09E-05	2,74E-02
7	C203n9GD	4	DRGA0007296	1,20E-04	3,27E-02
	C201_C200GD	1	H3GA0019664	9,94E-05	2,97E-02
8	C140_BF	82	SIRI0000509	3,69E-11	6,87E-07
	C160GD	320	ALGA0049135	1,11E-16	1,02E-12
	C161n7GD	76	SIRI0000509	2,28E-10	4,34E-06
	C203n9GD	73	ALGA0049202	2,65E-06	1,92E-02
	C181n7_C161n7_BF	126	SIRI0000509	3,92E-14	7,36E-10
	C203n6_C182n6_BF	40	ASGA0091658	2,60E-07	9,96E-03
9	C140_BF	4	ASGA0094119	1,66E-04	4,51E-02
	C203n9GD	1	ALGA0054281	2,41E-04	4,64E-02
	C203n6_C182n6_BF	1	ASGA0044901	6,49E-05	4,44E-02
10	C160GD	1	ALGA0057106	5,07E-04	4,68E-02
	C201_C200GD	2	CASI0008145	1,25E-04	2,97E-02
	C181n7_C161n7_BF	1	ALGA0057477	8,19E-05	2,61E-02
11	C160GD	5	H3GA0031584	1,32E-04	2,10E-02
	C201_C200GD	4	ALGA0060682	1,87E-04	4,07E-02
12	C140_BF	30	ASGA0054716	1,62E-06	1,83E-03
	C160GD	5	H3GA0034587	1,48E-04	2,29E-02
	C161n7GD	1	ASGA0054716	6,77E-06	6,44E-03
	C203n9GD	12	ASGA0103636	3,73E-05	2,74E-02
	C201_C200GD	2	M1GA0016343	5,78E-05	2,97E-02
	C181n7_C161n7_BF	3	ASGA0054716	1,66E-05	8,21E-03
	C203n6_C182n6_BF	12	DRGA0011713	6,72E-06	2,36E-02
13	C140_BF	4	ALGA0122555	5,27E-05	2,28E-02
	C160GD	22	ALGA0047996	7,72E-06	2,48E-03
	C161n7GD	1	ALGA0072095	1,31E-04	4,97E-02
	C203n9GD	2	ALGA0067585	1,29E-04	3,40E-02
	C201_C200GD	2	ALGA0069196	9,00E-05	2,97E-02
	C181n7_C161n7_BF	3	H3GA0037348	1,75E-04	4,19E-02
14	C160GD	8	INRA0048158	1,39E-04	2,18E-02
	C161n7GD	1	M1GA0019666	1,50E-05	1,21E-02
	C203n9GD	8	INRA0048158	4,69E-05	2,74E-02
	C201_C200GD	89	ASGA0063176	5,59E-06	3,48E-03
	C181n7_C161n7_BF	4	ALGA0083044	7,70E-05	2,58E-02
	C203n6_C182n6_BF	2	ASGA0068026	1,56E-05	3,15E-02
15	C140_BF	5	ALGA0086794	1,92E-05	1,17E-02
	C160GD	5	H3GA0043936	5,02E-05	1,04E-02
	C161n7GD	3	MARC0094549	5,55E-06	5,42E-03
16	C140_BF	13	ASGA0073871	7,39E-06	6,19E-03
	C160GD	2	ASGA0073871	2,00E-05	4,92E-03
	C161n7GD	4	ALGA0124436	1,95E-05	1,33E-02
	C201_C200GD	82	ALGA0090469	3,22E-07	2,31E-03
	C181n7_C161n7_BF	8	ASGA0073871	3,85E-06	2,89E-03
17	C140_BF	2	ALGA0116783	2,48E-05	1,44E-02
	C160GD	5	ALGA0116783	6,84E-05	1,32E-02

	C161n9GD	7	INRA0054046	1,46E-05	1,16E-02
	C203n9GD	7	INRA0054046	2,33E-05	2,74E-02
	C181n7_C161n7_BF	1	ALGA0095321	3,31E-05	1,43E-02
18	C140_BF	9	ASGA0079346	4,10E-06	3,72E-03
	C161n7GD	5	ASGA0079346	7,32E-06	6,61E-03
	C201_C200GD	2	ALGA0115518	8,17E-05	2,97E-02
	C181n7_C161n7_BF	13	ASGA0079346	1,11E-05	5,87E-03
19	C140_BF	1	ASGA0097557	1,10E-04	3,69E-02
	C181n9GD	7	ASGA0081151	1,42E-06	4,92E-02
	C182n6GD	2	ALGA0100214	7,99E-06	1,31E-02
	PUFAGD	2	ALGA0100214	8,17E-06	1,40E-02
	MUFA_PUFAGD	3	ALGA0100214	2,56E-06	7,22E-03
	C203n6_C182n6_BF	1	ALGA0100214	2,22E-05	3,52E-02

8. REFERENCIAS **BIBLIOGRÁFICAS.**

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- AGPIC. 2009. "Calidad de La Carne de Cerdo." *AGROCERES* (1425).
- Amaya, Iraida, Oliver J. Ratcliffe, and Desmond J. Bradley. 2005. "Expression of IGF1 and IGF2 Genes in Muscles during Development of Pigs Representing Five Different Breeds." *Society* 11(August):1405–17.
- Aslan, Ozlem et al. 2012. "Variation in the IGF2 Gene Promoter Region Is Associated with Intramuscular Fat Content in Porcine Skeletal Muscle." *Molecular Biology Reports* 39(4):4101–10.
- Blasco, A. et al. 1994. "Comparison of Five Types of Pig Crosses. I. Growth and Carcass Traits." *Livestock Production Science* 40(2):171–78.
- Branda, A. et al. 2011. "Variantes En Dos Genes Candidatos Para Características de Calidad de Carne Bovina En Argentina." *Archivos de Zootecnia* 60(231):521–32.
- Brookes, Anthony J. 1999. "The Essence of SNPs." *Gene* 234(2):177–86.
- Burgos, Carmen et al. 2012. "The Effects of Two Alleles of IGF2 on Fat Content in Pig Carcasses and Pork." *Meat Science* 90(2):309–13. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.07.016>).
- Bush, William S. and Jason H. Moore. 2012. "Chapter 11: Genome-Wide Association Studies." *PLoS Computational Biology* 8(12).
- Cameron, N. D. 1990. "Genetic and Phenotypic Parameters for Carcass Traits , Meat and Eating Quality Traits in Pigs." 26:119–35.
- Cameron, N. D., M. Enser, G. R. Nute, F. M. Whittington, and J. C. Penman. 2000. "Genotype with Nutrition Interaction on Fatty Acid Composition of Intramuscular Fat and the Relationship with $\bar{\text{A}}$ Avour of Pig Meat." *Meat Science* 55:187–95.
- Carrodegua, Jos?? Alberto et al. 2005. "Incidence in Diverse Pig Populations of an IGF2 Mutation with Potential Influence on Meat Quality and Quantity: An Assay Based on Real Time PCR (RT-PCR)." *Meat Science* 71(3):577–82.
- Casas, E. 2006. "Aplicación De La Genómica Para Identificar Genes Que Influyen Sobre Características Económicamente Importantes En Animales." *Archivo Latinoamericano de Produccion Animal* 14(14):24–31. Retrieved (<http://www.bioline.org.br/pdf?la06004>).
- Corominas, Jordi et al. 2013. "Polymorphism in the ELOVL6 Gene Is Associated with a

- Major QTL Effect on Fatty Acid Composition in Pigs.” *PLoS ONE* 8(1):1–12.
- Dekkers, J. C. 2004. “Commercial Application of Marker- and Gene-Assisted Selection in Livestock: Strategies and Lessons.” *Journal of animal science*. 82 E-Suppl.
- Dong, Qian et al. 2014. “A Genome-Wide Association Study of Five Meat Quality Traits in Yorkshire Pigs.” *Frontiers of Agricultural Science and Engineering* 1(2):137. Retrieved (<http://engineering.cae.cn/fase/EN/10.15302/J-FASE-2014014>).
- Duthie, Carol Anne et al. 2011. “Quantitative Trait Loci for Meat Quality Traits in Pigs Considering Imprinting and Epistatic Effects.” *Meat Science* 87(4):394–402. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.11.017>).
- Estellé, J. et al. 2005. “Effect of the Porcine IGF2-intron3-G3072A Substitution in an Outbred Large White Population and in an Iberian X Landrace Cross.” *Journal of Animal Science* 83(12):2723–28.
- Fassa, V. ... et al. 2015. “Análisis de Los Efectos de Cinco Genes (IGF2, CTSD, TBC1D1, MC4R Y FABP3) Sobre La Conversión Alimenticia, La Velocidad de Crecimiento Y El Contenido de Grasa Subcutánea En Cerdos de La Raza Landrace.” *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias* 41(3):282. Retrieved May 17, 2016 (http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1669-23142015000300008&lng=es&nrm=iso&tlng=es).
- Fernández, A., C. Ovilo, and A. Fernández. 2006. “EFECTOS DE LA SUSTITUCIÓN IGF2: G. 3072G> A SOBRE CARACTERES PRODUCTIVOS Y DE CALIDAD DE CARNE EN CERDOS PESADOS.” *Acteon. Webs. Upv. Es* 2–4. Retrieved ([http://acteon.webs.upv.es/CONGRESOS/AIDA 2007/Fernandez et al. \(2\).pdf](http://acteon.webs.upv.es/CONGRESOS/AIDA 2007/Fernandez et al. (2).pdf)).
- Fonseca, Patr??cia D. da S. et al. 2015. “Association of ADIPOQ, OLR1 and PPARGC1A Gene Polymorphisms with Growth and Carcass Traits in Nelore Cattle.” *Meta Gene* 4:1–7. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.mgene.2015.02.001>).
- Fontanesi, L. et al. 2010. “The Insulin-like Growth Factor 2 (IGF2) Gene intron3-g.3072g>A Polymorphism Is Not the Only Sus Scrofa Chromosome 2p Mutation Affecting Meat Production and Carcass Traits in Pigs: Evidence from the Effects of a Cathepsin D (CTSD) Gene Polymorphism.” *Journal of Animal Science* 88(7):2236–45.
- Gil, Ángel. 2010. “Tratado de Nutrición: Composición Y Calidad Nutritiva de Los Alimentos - Angel Gil (DRT) Hernandez - Google Libros.” in *Tratado de*

Nutrición. Madrid.

- Groenen, Martien A. M. et al. 2013. "Europe PMC Funders Group Europe PMC Funders Author Manuscripts Europe PMC Funders Author Manuscripts Analyses of Pig Genomes Provide Insight into Porcine Demography and Evolution." 491(7424):393–98.
- Hernández Bautista, Jorge, Jesica Leticia Aquino López, and Francisco Gerardo Rincón Ríos. 2013. "Efecto Del Manejo Pre-Mortem En La Calidad de La Carne." *Ciencia y Tecnología de la Carne* 7(2):41–64.
- Hernández-Sánchez, J. et al. 2013. "Genomic Architecture of Heritability and Genetic Correlations for Intramuscular and Back Fat Contents in Duroc Pigs." *Journal of Animal Science* 91(2):623–32.
- Hong, Joonki et al. 2015. "Effects of Genetic Variants for the Swine FABP3, HMGA1, MC4R, IGF2, and FABP4 Genes on Fatty Acid Composition." *Meat Science* 110:46–51. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.06.011>).
- Ibáñez, Noelia. 2010. "Selección Genómica." 4–6,9. Retrieved (<http://www.mastergr.upv.es/Asignaturas/Apuntes/08.Cuantitativa3/Noeapuntes.pdf>).
- Knapp, Peter, Alfons Willam, and Johann Sölkner. 1997. "Genetic Parameters for Lean Meat Content and Meat Quality Traits in Different Pig Breeds." *Livestock Production Science* 52(1):69–73.
- Van Laere, Anne-Sophie et al. 2003. "A Regulatory Mutation in IGF2 Causes a Major QTL Effect on Muscle Growth in the Pig." *Nature* 425(6960):832–36.
- Laura, Elma, Salazar Marroquín, Maurilio González, and Bosque González. 2004. "Evaluación de Microsatélites Para La Verificación de Paternidad de Las Razas Beefmaster Y Charolais En El Noreste de México Evaluation of Microsatellite Markers for Parentage Verification in Beefmaster and Charolais Cattle from Northeast of Mexico." 42(3):429–35.
- Lee, S. H. et al. 2010. "Association between Polymorphisms of the Heart Fatty Acid Binding Protein Gene and Intramuscular Fat Content, Fatty Acid Composition, and Meat Quality in Berkshire Breed." *Meat Science* 86(3):794–800. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.06.024>).
- López-Bote, C., B. Isabel, and a I. Rey. 1999. "Efecto de La Nutrición Y Del Manejo Sobre La Calidad de La Grasa En El Cerdo." *XV Curso de especialización FEDNA*.

- Van den Maagdenberg, K., A. Stinckens, E. Claeys, N. Buys, and S. De Smet. 2008. "Effect of the Insulin-like Growth Factor-II and RYR1 Genotype in Pigs on Carcass and Meat Quality Traits." *Meat Science* 80(2):293–303.
- Mach, N. et al. 2006. "Increasing the Amount of N-3 Fatty Acid in Meat from Young Holstein Bulls through Nutrition." *Journal of Animal Science* 84(11):3039–48.
- Manolio, Teri A. and Thomas Pearson. 2014. "How to Interpret a Genome-Wide Association Study." *The Journal of the American Medical Association* 299(11):1335–44.
- Ministerio de Agricultura alimentación y medio ambiente. 2014. "Caracterización Del Sector Porcino Español. Año 2014." *Caracterización Del Sector Porcino*. 7.
- Ministerio de agricultura alimentación y medio ambiente, Gobierno de España. 2014. *Http---Www.magrama.gob.es-Es-Ganaderia-Temas-Produccion-Y-Mercados-Ganaderos-Sectores-Ganaderos-Porcino- (1).pdf*. Madrid: Porcino.
- Moskvina, Valentina and Karl Michael Schmidt. 2008. "On Multiple-Testing Correction in Genome-Wide Association Studies." *Genetic Epidemiology* 32(6):567–73.
- Munoz, Maria et al. 2013. "Genome-Wide Analysis of Porcine Backfat and Intramuscular Fat Fatty Acid Composition Using High-Density Genotyping and Expression Data." *Bmc Genomics* 14.
- Oczkowicz, M., M. Tyra, K. Walinowicz, M. Rózycki, and B. Rejduch. 2009. "Known Mutation (A3072G) in Intron 3 of the IGF2 Gene Is Associated with Growth and Carcass Composition in Polish Pig Breeds." *Journal of applied genetics* 50(3):257–59.
- Pérez-enciso, Miguel and Ignacy Misztal. 2011. "Manual QxPak." *Bioinformatics* 1–36.
- PigQTLdb. 2016. "Browse the Pig Genome for QTL." Retrieved (http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/traitmap?trait_ID=231).
- Pires, A. V. et al. 2005. "Quantitative Trait Loci Mapping for Meat Quality Traits in Swine Chromosome 6." *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 57(5):608–15. Retrieved April 12, 2016 (http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352005000500006&lng=en&nrm=iso&tlng=en).
- Polasik, Daniel, Agnieszka Głodek, and Artur Rybarczyk. 2013. "An Analysis of Ppargc1a Gene Polymorphism in Relation To Carcass Quality in Pic Hybrid Fatteners." 12(4):71–78.

- Puig-Oliveras, Anna et al. 2014. "Differences in Muscle Transcriptome among Pigs Phenotypically Extreme for Fatty Acid Composition." *PLoS ONE* 9(6).
- Puigserver, Pere et al. 1998. "A Cold-Inducible Coactivator of Nuclear Receptors Linked to Adaptive Thermogenesis." *Cell* 92(6):829–39.
- Purcell, S. et al. 2007. "PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses." *American Journal of Human Genetics* 81(3):559–75.
- Ramayo-Caldas, Y. et al. 2012. "Genome-Wide Association Study for Intramuscular Fatty Acid Composition in an Iberian X Landrace Cross." *Journal of Animal Science* 90(9):2883–93.
- Ramos, Antonio M. et al. 2009. "Design of a High Density SNP Genotyping Assay in the Pig Using SNPs Identified and Characterized by next Generation Sequencing Technology." *PLoS ONE* 4(8).
- Revilla, Manuel et al. 2014. "New Insight into the SSC8 Genetic Determination of Fatty Acid Composition in Pigs." *Genetics, selection, evolution : GSE* 46:28. Retrieved (<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4043687&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>).
- Rohrer, G. A., D. J. Nonneman, R. K. Miller, H. Zerby, and S. J. Moeller. 2012. "Association of Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Markers in Candidate Genes and QTL Regions with Pork Quality Traits in Commercial Pigs." Retrieved (http://ac.els-cdn.com/S0309174012001842/1-s2.0-S0309174012001842-main.pdf?_tid=57cd35ec-1dcc-11e6-869d-00000aacb362&acdnat=1463667597_7e9cb804a46f90e67b24c4a190ca64f8).
- Rothschild, M. F. 2000. "Advances in Pig Molecular Genetics, Gene Mapping and Genomics." 349–61.
- Sachidanandam, R. et al. 2001. "A Map of Human Genome Sequence Variation Containing 1.42 Million Single Nucleotide Polymorphisms." *Nature* 409(6822):928–33.
- Sanchez, Marie-Pierre et al. 2014. "A Genome-Wide Association Study of Production Traits in a Commercial Population of Large White Pigs: Evidence of Haplotypes Affecting Meat Quality." *Genetics, selection, evolution : GSE* 46:12. Retrieved (<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3975960&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>).
- Serra, X. et al. 1998. "A Comparison of Carcass, Meat Quality and Histochemical

- Characteristics of Iberian (Guadyerbas Line) and Landrace Pigs.” *Livestock Production Science* 56(3):215–23. Retrieved (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301622698001511>).
- Sirvent, María and Cristina Gómez. 2012. “Marcadores Moleculares Basados En PCR : Marcadores SSR O STR (Simple Sequence Repeats or Short Tandem Repeats). Microsatélites.” 80.
- Soria, L. et al. 2007. “Polimorfismos En El Gen PPARGC1 € En Bovinos Para Carne Polymorphisms on the PPARGC1 € Gene in Beef Cattle.” *Alpa* 2005–8.
- Storey, John D. and Robert Tibshirani. 2003. “Statistical Significance for Genomewide Studies.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(16):9440–45.
- Stranger, Barbara E., Eli A. Stahl, and Towfique Raj. 2011. “Progress and Promise of Genome-Wide Association Studies for Human Complex Trait Genetics.” *Genetics* 187(2):367–83.
- Stuber, Charles W. 1995. “Mapping and Manipulating Quantitative Traits in Maize.” *Trends in Genetics* 11(12):477–81.
- Tibau, Joan. 2004. “La Genética Y La Producción Porcina.”
- Tibau, Joan. 2005. “Aplicación Del Método BLUP a La Evaluación Y Selección de Reproductores Porcinos Joan Tibau I Font (*).” 17121:14.
- Varona, Luis. 2008. “Genética Molecular Y Calidad de La Carne de Cerdo.” *Universo Porcino* (Mayo 2003):4–7. Retrieved (http://www.universoporcino.com/articulos/carne_porcina_genetica_molecular_y_calidad_de_carne.html).
- Wells, H. .. 2001. “1.-Estadística Descriptiva.” *IV ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA*. Retrieved (<http://eco.uab.es/plaes/HISTORIC/prog97-98/2226404.pdf>).
- Wood, J. D. et al. 2008. “Fat Deposition, Fatty Acid Composition and Meat Quality: A Review.” *Meat Science* 78(4):343–58.
- Yague, Gema. 2008. “Puntos Claves de Los Genes Y QTLs Porcinos.” *La genética actual*.
- Yang, Bin et al. 2013. “Genome-Wide Association Analyses for Fatty Acid Composition in Porcine Muscle and Abdominal Fat Tissues.” *PLoS ONE* 8(6).
- Zheng, Qi et al. 2009. “Systematic Identification of Genes Involved in Divergent Skeletal Muscle Growth Rates of Broiler and Layer Chickens.” *BMC genomics* 10(1):87. Retrieved (<http://www.biomedcentral.com/1471-2164/10/87>).

Zhi-Liang, Hu and A. Carissa. 2016. "PigQTLdb." *Developmental progress and current status of the Animal QTLdb* 44 (D1): D827–33. Retrieved April 13, 2016 (<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index>).

