

ESTUDIO DE ASOCIACIÓN CON CARACTERES DE CALIDAD DE CARNE Y MARCADORES SNP EN REGIONES RELACIONADAS CON GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESADOS EN DOS MÚSCULOS EN LA RAZA BOVINA AVILEÑA-NEGRA IBÉRICA

Quintero-Arboleda, Ximena¹, Carabaño, M^a Jesús¹, Natalia Moreno-Sánchez, Meneses, Cristina¹, Carmen González-Verdejo, Rueda, Julia², Díaz, Clara¹

¹Departamento de Mejora Genética Animal. INIA. ²Departamento de Genética. UCM
Correo electrónico: cdiaz@inia.es

RESUMEN: Con el objetivo de identificar regiones del genoma asociadas a algunos caracteres de calidad de carne en la raza Avileña Negra-Ibérica (ANI) en dos músculos, se han tenido en cuenta la posición en el genoma de 205 genes diferencialmente expresados (DE) entre el *Psoas major* y *Flexor digitorum* en esta misma raza. Se dispuso de genotipos de 397 terneros de raza Avileña-Negra Ibérica obtenidos con la plataforma Illumina Bovine SNP50. Los marcadores con un “call rate” menor del 98% o fijados fueron excluidos del análisis. Los caracteres incorporados en el análisis fueron dos caracteres organolépticos (Flavor y Terneza) y dos caracteres laboratoriales (Grasa intramuscular y Terneza instrumental). Para el análisis de asociación se utilizó un total de 3110 marcadores que bien estaban contenidos en los genes DE (104 marcadores) o en las zonas flanqueantes a dichos genes en una ventana de 500kb. El análisis estadístico se realizó con QXPak 5.0. Se encontraron en total veinte marcadores asociados a las características estudiadas, de los cuales 12 se asociaron a grasa intramuscular, cinco a terneza organoléptica y tres a terneza instrumental. Estos marcadores corresponden a 23 genes DE distribuidos en las zonas flanqueantes (22) y contenidos dentro de genes DE (1). No se encontraron marcadores asociados a flavor. Tampoco se encontraron coincidencias de marcadores entre los caracteres ni entre músculos.

PALABRAS CLAVE: Marcadores, terneza organoléptica, terneza instrumental, grasa intramuscular

SUMMARY: In order to identify regions of the genome associated with some meat quality traits in the Avileña Negra-Ibérica (ANI) breed in two muscles, the genomic regions containing the 205 genes differentially expressed (DE) between *Psoas major* and *Flexor digitorum* in this breed were taken into account. Genotypes of 397 ANI calves with the Illumina Bovine 50K SNP platform were available. Markers with a call rate below 98% or fixed were excluded from the analysis. A total of 3110 markers were within the DE genes (104) or within the flanking regions of the same genes. The traits included in the analysis were two sensory traits (flavor and tenderness) and two laboratory measurements (intramuscular fat and instrumental tenderness). The software used for the analysis was QXPak 5.0. Twenty markers were found to be associated with intramuscular fat (12), tenderness (5) and instrumental texture (3). None of the markers were associated to more than one character and in both muscles to the same trait. Twenty two genes were flanked by this markers and one of the markers was contained in one of the DE genes.

KEYWORDS: Markers, sensory tenderness, instrumental tenderness, intramuscular fat.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la mejora de la calidad de la carne es de gran interés tanto para los productores como para los consumidores, por lo cual cada día aumenta la búsqueda de criterios de selección para introducir la calidad de carne en los programas de mejora (Díaz y Quintanilla 2002). En el estudio de consumidores realizado por Martín-Collado y Díaz (2012), las características sensoriales de la carne que fueron más valoradas por los consumidores son el sabor y la terneza, mientras que a nivel laboratorial, la grasa intramuscular y la resistencia al corte son factores que han sido ampliamente utilizados para determinar la calidad de la carne (www.aniamlgenome.com). La calidad de la carne es un concepto muy amplio y complejo (Piedrafita et al 2003), que engloba varios aspectos importantes como la raza, edad, condiciones del sacrificio, entre otros, por lo tanto es de vital importancia

comprender las diferencias físicas y bioquímicas que existen entre piezas procedentes de diferentes animales o incluso las diferencias entre músculos de una misma canal. La maduración de la carne juega un papel importante en las características del producto final y depende básicamente de la concentración de proteasas y sus inhibidores, de la acción específica de estas, de la sensibilidad de las proteínas a las proteasas y de la presión osmótica y como es de esperar estos factores varían entre músculos (Ouali 1990, Monin y Ouali, 1992). En estudios anteriores se han determinado diferencias metabólicas entre músculos de una misma canal en los que influyen procesos oxidativos o anaeróbicos que corresponden a las características funcionales de cada uno. Los músculos esqueléticos de acción rápida están compuestos predominantemente de fibras blancas glucolíticas, mientras que los músculos de acción lenta que se encargan de mantener el tono, generalmente son rojos y oxidativos. Moreno-Sánchez et al. (2008) caracterizaron las diferencias fibrilares de dos músculos (*Psoas major* y *Flexor digital*) que constituyen la base de dos cortes comerciales muy diferentes en cuanto al valor y la percepción en el mercado: el solomillo y el morcillo, respectivamente, y determinaron que el *Flexor digital* es un músculo eminentemente oxidativo mientras que el *Psoas major* es un músculo de tipo mixto. Para comprender la base genética que determina las características de las diferencias entre músculos de una misma canal, Moreno-Sánchez et al. (2011) realizaron un estudio en la raza (ANI) en el cual identificaron 205 genes que se expresan diferencialmente (DE) en ambos músculos y que han sido asociados a caracteres de calidad de carne en otras razas (Reverter et al., 2008).

El objetivo de este trabajo es determinar si los genes DE encontrados en el estudio de expresión están asociados a los caracteres de calidad de carne y a las diferencias entre músculos (*Psoas major* y *Flexor digitorum*) mediante un análisis de asociación con marcadores SNPs.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el análisis se dispuso de información de genotipos en 397 terneros de raza ANI. El genotipado se realizó con la plataforma Illumina Bovine SNP50. Inicialmente se disponía de 54609 SNPs de los cuales se eliminaron aquellos que tenían un "call rate" menor de un 98% o estaban fijados. Después de la edición de los genotipos, 46221 SNPs fueron utilizados.

Por otro lado, se utilizó el mapa de los 205 genes DE encontrados por Moreno-Sánchez et al. (2011). Se descargó la base de datos del ensamblaje UMD 3.1 y mediante un procedimiento en lenguaje de programación Awk y R, se posicionaron los genes DE para buscar los marcadores SNPs que bien estaban en alguno de los genes DE o flanqueaban dichos genes en una ventana de 500Kb.

Por último se dispuso de datos fenotípicos de grasa intramuscular (GIM), flavor, terneza organoléptica y de compresión Warner-Blatzer o terneza instrumental tomada después de siete días de maduración en los animales genotipados.

- El modelo usado para el análisis de asociación fue el siguiente:

$$y_{ijklm(no)pqr} = CbA_i + DCb_j + EdS_k + EpS_l + M_m + (SC_n + Ct_o) + gSNP_p + a_q + e_{ijklm(no)pqr}$$

donde CbA= Cebadero-Año, DCb=Duración del periodo de cebo, EdS=Edad al sacrificio, EpS=Época de sacrificio, M=Matadero, Ss/Ct=Sesión de cata/Catador (sólo para terneza organoléptica), gSNP=genotipo SNP, a=efecto poligénico, e=residuo. El análisis se llevó a cabo con el software QXpak 5.2 (Pérez-Enciso y Misztal, 2011).

Se determinó la tasa de falsos positivos (FDR) para fijar el umbral de significación. $FDR = n \cdot (p\text{-valor}) / k$, donde n es el número total de SNPs incluidos en el análisis, p es el umbral del p-valor fijado a priori y k es el número de SNPs seleccionados dado el umbral establecido para identificar los SNPs asociados a los distintos caracteres.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 205 genes DE, seis no fueron encontrados en el ensamblaje UMD_3.1. Se encontraron 3651 marcadores flanqueando los 199 genes DE restantes y 128 estaban contenidos en dichos genes. Después del filtraje de acuerdo a los criterios descritos anteriormente, 3110 SNPs entraron en el análisis de asociación, de los cuales, 104 estaban contenidos en los genes DE. Estableciendo un umbral de FDR del 10%, se encontraron un total de veinte marcadores asociados a grasa intramuscular (12), terneza organoléptica (5) y terneza instrumental (3). De los marcadores identificados uno se encuentra en la región comprendida por un gen DE y diecinueve corresponden a zonas flanqueantes de veintidós genes DE. En la Figura 1 se presentan el log de los p-valores junto con el umbral de significación fijado según el FDR correspondiente a un p valor menor que 10^{-4} para la terneza organoléptica, terneza instrumental, y grasa intramuscular respectivamente. No se encontraron marcadores asociados a flavor. Tampoco se encontraron coincidencias entre los caracteres ni entre músculos. Uno de los marcadores asociados a terneza instrumental está dentro del gen DE, TTN. Otro de los marcadores encontrados asociados a grasa intramuscular está flanqueando en CRYAB, gen DE y que ha sido previamente asociado a contenido de grasa intramuscular (Reverter et al., 2008).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Díaz C. y Quintanilla R. 2002. ITEA. Producción Animal 98: 118.
Martín-Collado D., Díaz C. 2012. 63rd EAAP. Eslovenia.
Monin, G. & Ouali, A. 1992. Developments in meat science. R. Lawrie, 89-157.
Moreno-Sánchez, N., C. Díaz, M. J. Carabaño, J. Rueda, and J. L. Rivero. (2008). BMC Cell Biol 9: 67.
Moreno-Sánchez N., Rueda J., Reverter A., Carabaño M. J., Díaz C. 2011. Functional & Integrative Genomics. DOI 10.1007/s10142-011-0249-9.
Perez-Enciso M., Misztal. 2011. Qxpk5: Old mixed model solutions for new genomics problems. BMC Bioinformatics 12(1), 202. doi:10.1186/1471-2105-12-202
Reverter A., Chan E. K. F., Lehnert S. A., Barris W., McWilliam S. M., Dalrymple B., Barendse W. 2008. Aus J Exp Agric 48: 1053-1061.
Piedrafita J, Quintanilla R, et al. 2003. Carcass quality of ten beef cattle breeds of the South-west of Europe. Livest Prod Sci 82, 1-13.

Agradecimientos: Los autores agradecen su contribución en la toma de muestras a la AECRANI y al Consejo Regulador de Carne de Ávila. Este estudio está financiado por el programa NEWGAN-CAM.

Figura 1. Manhattan plots para $-\log(P\text{value})$ junto con el umbral de significación de acuerdo con un $FDR \leq 10\%$. en cada músculo para terneza organoléptica, terneza instrumental y grasa intramuscular.

