



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Asociación de genoma completo en caracteres de crecimiento y calidad de la canal en ganado vacuno pirenaico

Whole genome association in growth and carcass quality in Pirenaica beef cattle

Autor/es

Natalia Lacambra Sarrablo

Director/es

Luis Varona Aguado
María Martínez Castellero

Facultad de Veterinaria

2020-2021

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	3
2. ABSTRACT	4
3. INTRODUCCIÓN.....	5
3.1. LA RAZA BOVINA PIRENAICA.....	5
3.2. EL PLAN DE MEJORA DE LA RAZA PIRENAICA	5
3.3. ASOCIACION DE GENOMA COMPLETO.....	8
4. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	9
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
5.1. MATERIAL FENOTÍPICO Y GENOTÍPICO	9
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
6.1. COMPONENTES DE VARIANZA Y HEREDABILIDAD	14
6.2. PESO AL NACIMIENTO (PN):.....	14
6.3. PESO A LOS 90 DÍAS (P90):.....	16
6.4. PESO A LOS 210 DÍAS (P210):.....	18
6.5. PESO DE LA CANAL FRÍA (PC):	20
6.6. CONFORMACIÓN (CON):	21
6.7. ENGRASAMIENTO (ENG):.....	23
6.8 COMENTARIOS FINALES:	24
7. CONCLUSIONES.....	26
8. CONCLUSIONS.....	26
9. VALORACIÓN PERSONAL	27
10. BIBLIOGRAFÍA:.....	28

1. RESUMEN

En este estudio se han identificado las regiones genómicas relacionadas con la variabilidad genética para seis caracteres asociados al crecimiento y calidad de la canal en la raza bovina Pirenaica. Para ello, se ha utilizado el procedimiento ssGBLUP (single-step Genomic Selection BLUP) y ssGWAS (single-step Genome Wide Association) a partir de las bases de datos fenotípicas disponibles en el programa de mejora de la raza bovina Pirenaica. El fichero de datos consistió en 144,141 datos de Peso al Nacimiento (PN), 53,758 de Peso a los 90 días (P90), 42,277 de Peso a los 210 días (P210), 96,262 de Peso de la Canal Fría (PC), 91,642 de Conformación (CON) y 91,865 de Engrasamiento (ENG). Además, se dispuso del genotipado de 755 individuos con el Axiom[®] Bovine Genotyping Array, que, tras un filtrado previo mediante *plink*, contó con 31,509 marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) autosómicos. También se utilizó la información del Libro Genealógico de la raza que contenía 343,753 entradas individuo-padre-madre. El análisis se realizó mediante equivalencias con los modelos GBLUP y SNPBLUP para obtener los efectos de los SNP y se calculó el porcentaje de varianza explicada por las regiones del genoma compuestas de 50 SNPs. Aquellas regiones que superaron el 1% de varianza genética aditiva explicada se identificaron como regiones genómicas de interés, y se localizaron en los cromosomas 1, 6, 7, 11, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 24. Algunas de estas regiones han presentado efecto pleiotrópico: BTA1 (929617-1901058) para PN y CON, BTA1 (131642361-132470233) para P90 y CON, BTA6 (37463048-40770870) para PN, P210 y CON, BTA16 (24874723-25949459) para P90, CON y ENG y BTA24 (43919728-47930702) para P210 y ENG. Entre los genes localizados merece la pena destacar: MRPS6 y NCK1 en BTA1, LCORL y NCAPG en BTA6, BPNT1 en BTA16 y el SMAD2 en BTA24.

2. ABSTRACT

In this study, genomic regions related to genetic variability for six traits associated with growth and carcass quality in the Pyrenean cattle breed were identified. For this purpose, the ssGBLUP (single-step Genomic Selection BLUP) and ssGWAS (single-step Genome Wide Association) procedures were used from the phenotypic databases available in the Pyrenean cattle breed improvement program. The data file consisted of 144,141 data for Birth Weight (BW), 53,758 for Weight at 90 days (W90), 42,277 for Weight at 210 days (W210), 96,262 for Cold Carcass Weight (CW), 91,642 for Conformation (CON) and 91,865 for Fatness (ENG). In addition, 755 individuals were genotyped with the Axiom[®] Bovine Genotyping Array, which, after a previous filtering by plink, counted 31,509 autosomal SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markers. Information available in the breed's Stud Book containing 343,753 individual-parent-mother entries was also used. The analysis was performed using GBLUP and SNPBLUP model equivalences to obtain SNP effects and the percentage of variance explained by genome regions composed of 50 SNPs was calculated. Those regions that exceeded 1% of additive genetic variance explained were identified as genomic regions of interest, and were located on chromosomes 1, 6, 7, 11, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21 and 24. Some of these regions showed a pleiotropic effect: BTA1 (929617-1901058) for PN and CON, BTA1 (131642361-132470233) for P90 and CON, BTA6 (37463048-40770870) for PN, P210 and CON, BTA16 (24874723-25949459) for P90, CON and ENG and BTA24 (43919728-47930702) for P210 and ENG. Among the localized genes it is worth highlighting: MRPS6 and NCK1 in BTA1, LCORL and NCAPG in BTA6, BPNT1 in BTA16 and SMAD2 in BTA24.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. LA RAZA BOVINA PIRENAICA

La raza bovina Pirenaica es una de las razas autóctonas con mayor tradición en España. Morfológicamente, se trata de ejemplares ortoides, de tamaño medio y proporciones alargadas. Presentan mucha masa muscular, línea dorsolumbar recta en la hembra y morrillo pronunciado en el macho. Además, su capa es trigueña con decoloración centrífuga y poseen cuernos en forma de lira alta y ligeramente en espiral (Echeveria y Asarta, 1976).

Su sistema de producción está estrechamente relacionado con el paisaje de los Pirineos y montañas aledañas, que le otorgan su denominación actual. Antiguamente, recibía el nombre de "Raza Vasca", "Raza del País" o "La Nuestra", según V. Laffitte (1926) esta raza es originaria de Navarra desde ahí se expandió por diversas regiones del territorio español y también del país francés. Actualmente, en España su censo se distribuye en las siguientes comunidades autónomas: Navarra, País Vasco, Aragón, Cantabria, Cataluña y pequeños núcleos en La Rioja, Castilla-León y Extremadura.

La raza Pirenaica destaca por su gran rusticidad, docilidad, facilidad para el parto y por su buena capacidad como nodriza. Tradicionalmente, la raza era de aptitud mixta (carne, leche y trabajo), pero desde mediados del siglo pasado, está dedicada casi en exclusividad a la producción cárnica. Su sistema de explotación se caracteriza por su emplazamiento en la montaña y por ajustarse a un modelo mixto, que comprende su producción extensiva con una finalización intensiva y el uso de pastaderos colectivos o comunales (Martinez, J.C., 2019).

Los tipos comerciales más característicos que se producen son el añojo y el vacuno mayor. Además, sus productos participan en la Indicación Geográfica Protegida (IGP): "Ternera de Navarra" y en el Label Vasco de calidad "Euskal Okela" (Martinez, J.C., 2019).

3.2. EL PLAN DE MEJORA DE LA RAZA PIRENAICA

El Libro Genealógico, el control de rendimientos y el plan de mejora genética de la raza Pirenaica están gestionados por la Confederación de Asociaciones de Criadores de Ganado Selecto de Raza Pirenaica (CONASPI), que agrupa a las siguientes asociaciones de criadores: ASPINA (Navarra), ASGAPIR (Bizkaia), ASAPI (Aragón), ASPIC (Cataluña), HEBE (Gipuzkoa), ARPIEL (Álava), ASPICAN (Cantabria) y IPARRALDEKO PIRENAIKA (Francia).

El plan de mejora genética de la raza se puso en marcha en 1989 con el asesoramiento del Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal de la Universidad de Zaragoza e

inicialmente se implementó la valoración genética mediante BLUP (Henderson, 1984) para los siguientes caracteres:

- Peso al Nacimiento (PN). El objetivo de la inclusión del peso al nacimiento fue la reducción de la presencia de distocias.
- Peso a los 90 días (P90) como predictor de la capacidad lechera de la madre (carácter materno).
- Peso a los 210 días (P210) como predictor de peso al sacrificio.

A partir del inicio de este siglo, se incorporaron caracteres registrados en el matadero gracias a la utilización de los datos públicos del Sistema Integral de Trazabilidad Animal (SITRAN) (Altarriba et al., 2009) que permitieron disponer de los siguientes caracteres:

- Peso de la Canal en frío (PC)
- Conformación (CON)
- Engrasamiento de la canal (ENG)

Los caracteres de Conformación y Engrasamiento se registran según la escala de valoración SEUROP, que se muestra en las figuras 1 y 2.

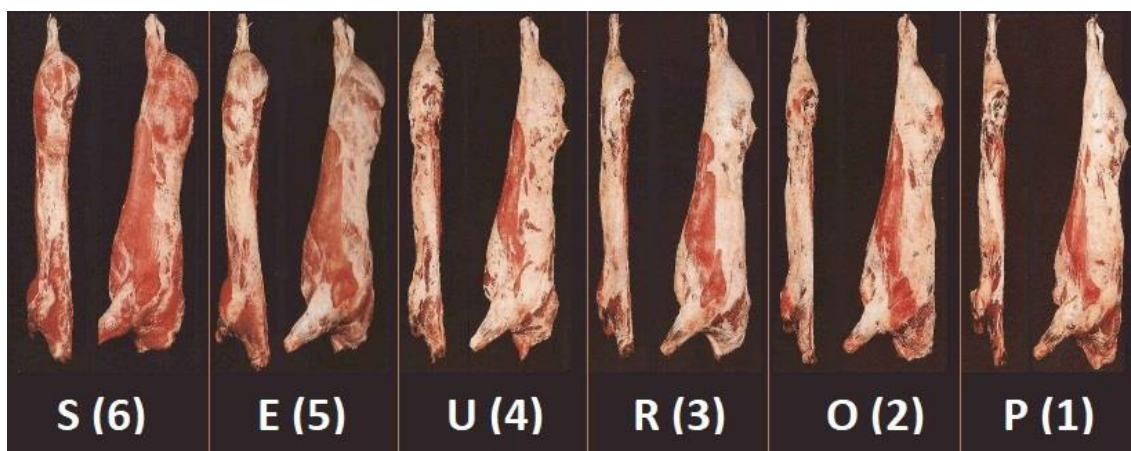


Figura 1. Escala de valoración SEUROP para el carácter CONFORMACIÓN.

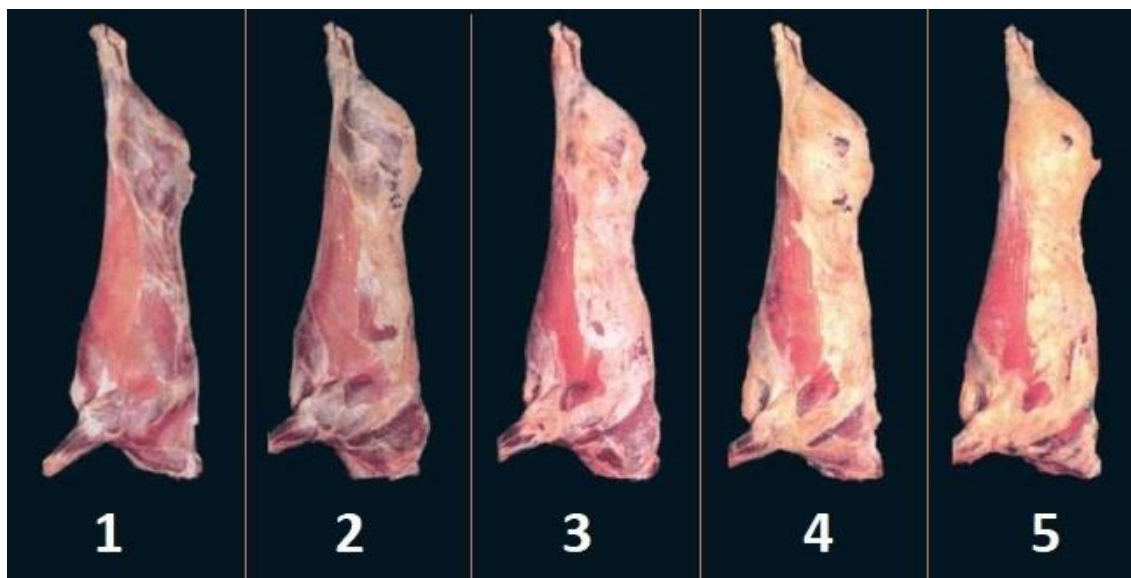


Figura 2. Escala de valoración SEUROP para el carácter ENGRASAMIENTO.

La valoración genética de los caracteres anteriormente mencionados se realiza mediante el mejor predictor lineal insesgado, BLUP (Henderson, 1984), utilizando los siguientes modelos para cada carácter:

- PESO AL NACIMIENTO: $PN_{ijklm} = \mu + S_i + E_M_j + REA_k + EBV_{PNi} + e_{ijklm}$
- PESO A LOS 90 DÍAS: $P90_{ijklmn} = \mu + E_i + S_j + E_M_k + REA_l + EBV_{P90m} + EBV_{EMN} + e_{ijklmn}$
- PESO A LOS 210 DÍAS: $P210_{ijklmn} = \mu + E_i + S_j + E_M_k + REA_l + EBV_{P210m} + e_{ijklmn}$
- PESO CANAL FRÍA: $PC_{ijkl} = \mu + E_i + S_j + REA_k + MAT_l + EBV_{PCm} + e_{ijklm}$
- CONFORMACIÓN: $CON_{ijkl} = \mu + E_i + S_j + REA_k + MAT_l + EBV_{CONm} + e_{ijklm}$
- ENGRASAMIENTO: $ENG_{ijkl} = \mu + E_i + S_j + REA_k + MAT_l + EBV_{ENGm} + e_{ijklm}$

Donde “S” corresponde al sexo del individuo, “E” a la edad, “E_M” a la edad de la madre, “REA” al efecto rebaño-año-estación, “EBV” a los valores genéticos aditivos directos y maternos (Peso a los 90 días), “MAT” al matadero y, finalmente, “e” a los valores residuales.

La utilización de este esquema de selección se basa en la valoración genética de los animales mediante el Índice Compuestos de Selección (ICO). Se utilizan dos ICO, obtenidos a partir de los resultados de la valoración genética mediante BLUP, para caracteres registrados en vivo (IVC) y en matadero (ICC) (Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal, 2011).

El IVC se calcula a partir de las valoraciones genéticas para Peso al Nacimiento (PN) con valoración negativa, el efecto materno para Peso a los 90 días (P90) y el Engrasamiento (ENG). Que se estandariza posteriormente con media 100 y varianza 100.

$$IVC = 0,2 EBV_{PN} + 0,4 EBV_{P90} + 0,4 EBV_{ENG}$$

Por otro lado para calcular ICC se utiliza el Peso al Nacimiento (PN) con valoración negativa, el Peso a los 210 días (P210), el Peso de la Canal Fría (PC) y la Conformación (CON). Que también se estandariza con media 100 y varianza 100.

$$ICC = 0,2 EBV_{PN} + 0,2 EBV_{P210} + 0,2 EBV_{PC} + 0,4 EBV_{CON}$$

3.3. ASOCIACION DE GENOMA COMPLETO

Desde el comienzo del desarrollo de la genética se ha marcado como objetivo localizar los genes o las regiones del genoma (QTL, *Quantitative Trait Loci*) responsables de la variabilidad de los caracteres cuantitativos (Sax, 1923) a partir de la información procedente de polimorfismos genéticos. Inicialmente, solo se estudiaba de la información obtenida mediante la realización de pruebas bioquímicas o la procedente de polimorfismos observables directamente en el individuo (fenotipos). Posteriormente, en los 80, se generalizó el uso de micro y mini satélites, que son un grupo de marcadores muy polimórficos. Esta información, junto al desarrollo de procedimientos estadísticos (Lander y Botstein, 1989; Haley y Knott, 1992) y de la realización de un gran número de protocolos experimentales en las especies de producción ganaderas, dio como resultado la detección de una gran cantidad de regiones asociadas a los caracteres de interés. Pero debe tenerse en cuenta que estos marcadores microsatélites, al localizarse habitualmente muy distanciados entre sí, proporcionaban una precisión reducida.

Ya en el siglo XXI, se ampliaron los estudios de secuenciación de los genomas de las especies domésticas (Groenen et al., 2012), que favorecieron el desarrollo de dispositivos de genotipado masivo de marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). Esta información ha permitido el desarrollo de la selección genómica (Meuwissen et al., 2001) y de los procedimientos utilizados en la asociación de genoma completo (GWAS: *Genome Wide Association*) (Georges, 2007). La implementación del GWAS implica un estudio de asociación estadística para cada uno de los marcadores SNP disponibles, que proporciona un valor de significación (valor p) bajo la hipótesis nula de la no asociación entre el marcador SNP y el carácter cuantitativo. De este modo, tras elaborar el análisis se obtiene un *Manhattan plot*, un tipo de gráfico donde se representan de forma logarítmica los valores p obtenidos a lo largo del genoma y que permite localizar aquellas regiones donde se observen los valores p más pequeños, y en la que se infiere que se localizan los genes responsables de variabilidad genética del carácter.

Además, los modelos utilizados para la realización del análisis de asociación del genoma completo (GWAS) en mejora genética animal, tienen en cuenta asiduamente la existencia de efectos ambientales sistemáticos (sexo, edad, matadero, etc.) y aleatorios (Rebaño-Año-

Estación). Por otra parte, Wang et al. (2012) ha demostrado la equivalencia entre los procedimientos de valoración genómica mediante ssGBLUP (Single-Step Genomic BLUP) (Aguilar et al., 2010) con los análisis GWAS. La valoración genómica mediante ssGBLUP utiliza el mismo modelo de valoración genética que BLUP (Henderson, 1984), pero sustituye la matriz de relaciones genéticas obtenida a partir de la genealogía (**A**), por una matriz calculada a partir de los marcadores SNP (**G**), y el procedimiento descrito por Wang et al. (2012) permite obtener los valores p asociados a cada uno de los marcadores SNP a partir de las predicciones de los valores genéticos aditivos obtenidos en una valoración genómica rutinaria.

Finalmente, cabe destacar que el uso de valores p en GWAS es controvertido, debido a que los valores p obtenidos por marcadores SNP adyacentes habitualmente tienen una magnitud semejante, debido al desequilibrio de ligamiento entre los marcadores. En vista de solucionar este problema, algunos autores (Fernando et al., 2017; Legarra, Ricard y Varona, 2018) han planteado usar el porcentaje de variabilidad genética capturada por un grupo de marcadores consecutivos en sustitución de los valores p.

4. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo consiste en localizar las regiones genómicas autosómicas asociadas de manera significativa a la variabilidad genética en los caracteres de interés: Peso al Nacimiento (PN), Peso a los 90 días (P90), Peso a los 210 días (P210), Peso de la Canal Fría (PC), Conformación (CON) y Engrasamiento (ENG) en la raza bovina Pirenaica.

Adicionalmente, se pretende identificar los genes presentes en estas regiones del genoma y proponer potenciales genes candidatos como responsables de la variabilidad genética de los caracteres incluidos en los índices de selección.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. MATERIAL FENOTÍPICO Y GENOTÍPICO

Para la realización de este estudio se han utilizado los datos fenotípicos procedentes de la base de datos utilizados en el esquema de selección de la Raza Bovina Pirenaica hasta el año 2020. Esta información está proporcionada por CONASPI (Confederación de Asociaciones de Ganado Pirenaico). La base de datos consistió en 144,141 datos de Peso al Nacimiento (PN), 53,758 de Peso a los 90 días (P90), 42,277 de Peso a los 210 días (P210), 96,262 de Peso de la Canal Fría (PC), 91,642 de Conformación (CON) y 91,865 de Engrasamiento (ENG). Además, se ha utilizado

la información genealógica procedente de Libro Genealógico de la raza que consistió en 343,753 entradas individuo-padre-madre para el cálculo de la matriz de parentesco genealógica (**A**).

La información de los tres primeros fenotipos (PN, P90 y P210), se ha realizado por parte de los controladores de CONASPI en la propia explotación, mientras que los datos de PC, CON y ENG proceden de la información registrada en la base de datos SITRAN (Sistema de Trazabilidad Integral) que proporcionan los mataderos donde se han sacrificado los animales.

La valoración de CON se realiza de manera visual y se refiere al desarrollo de los perfiles de la canal y, en particular, de las partes esenciales de la misma (cadera, lomo y paletilla). Se realiza en matadero, según el modelo SEUROP regulado en el Real Decreto 225/08 (BOE, 2008), que clasifica las canales en las siguientes categorías:

- **S** (Superior): Todos los perfiles extremadamente convexos; desarrollo muscular excepcional con dobles músculos (tipo «culón»).
- **E** (Excelente): Todos los perfiles de convexos a superconvexos; desarrollo muscular excepcional.
- **U** (Muy buena): Perfiles convexos en conjunto; fuerte desarrollo muscular.
- **R** (Buena): Perfiles rectilíneos en conjunto; buen desarrollo muscular.
- **O** (Menos buena): Perfiles de rectilíneos a cóncavos; desarrollo muscular medio.
- **P** (Mediocre): Todos los perfiles de cóncavos a muy cóncavos; escaso desarrollo muscular.

Cada una de las categorías anteriores se divide en tres subcategorías (Superior "+", Central "=" e Inferior "-"). Para el análisis estadístico se han asignado valores numéricos de 0.33 (**P-**) hasta 6 (**S+**), con intervalos de 0.33 unidades.

El carácter ENG se realiza mediante un examen visual donde se valora la cantidad de grasa en el exterior de la canal y en la cara interna de la cavidad torácica. Se clasifica también según en el modelo SEUROP, descrito en el Real Decreto 225/08 (BOE, 2008) en las siguientes categorías:

- **1** (No grasa): Cobertura de grasa inexistente o muy débil.
- **2** (Poco cubierto): Ligera cobertura de grasa, músculos casi siempre aparentes.
- **3** (Cubierto): Músculos, excepto cadera y paletilla, casi siempre cubiertos, escasos acúmulos de grasa en el interior de la cavidad torácica.
- **4** (Graso): Músculos cubiertos de grasa pero aun parcialmente visibles a nivel de la cadera y de la paletilla, algunos acúmulos pronunciados de grasa en el interior de la cavidad torácica.

- **5 (Muy graso):** Toda la canal cubierta de grasa, acúmulos importantes de grasa en el interior de la cavidad torácica.

Como en el caso anterior, para cada categoría se definen tres subcategorías (Superior “+”, Central “=” e Inferior “-“), y para su análisis estadístico se asignan valores con intervalos de 0.33 unidades, desde 0.33 (1-) hasta 5 (5+).

Las medias y desviaciones típicas de los datos disponibles se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Media y Desviación Típica de los caracteres analizados.

	Media	Desviación típica
Peso al Nacimiento	41.24	4.48
Peso a los 90 días	135.50	39.58
Peso a los 210 días	254.88	58.55
Peso de la Canal	300.40	56.11
Conformación	3.95	0.45
Engrasamiento	2.11	0.40

Además, se dispuso del genotipado de 755 individuos con el Axiom[®] Bovine Genotyping Array. Los individuos genotipados se seleccionaron en función de la precisión de su valoración genética en la evaluación de reproductores del año 2018. El fichero de genotipados disponible había sido filtrado previamente mediante *plink* (Purcell et al., 2007) y consistió en 31,509 marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) autosómicos que se distribuyeron entre los cromosomas tal y como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Distribución de los marcadores SNP a lo largo de los cromosomas autosómicos.

BTA	Número	BTA	Número	BTA	Número	BTA	Número	BTA	Número
1	2113	7	1289	13	1058	19	787	25	555
2	1650	8	1397	14	1090	20	1057	26	706
3	1549	9	1318	15	1122	21	938	27	574
4	1462	10	1331	16	1093	22	778	28	623
5	1258	11	1278	17	942	23	771	29	624
6	1548	12	1014	18	814	24	830		

Para comenzar el análisis de asociación del genoma completo (GWAS), basado en el método utilizado por C. M. Then (2020), se realizó una estimación de componentes de la varianza

mediante máxima verosimilitud restringida (REML) (Patterson y Thompson, 1971) con el paquete informático *airemlf90* (Misztal et al., 2002).

Para los caracteres Peso al Nacimiento, Peso de la Canal Fría, Conformación y Engrasamiento, utilizando el siguiente modelo: $y = Xb + Zu + Wp + e$. En el cual “y” es el vector de observaciones fenotípicas, “b” es el vector de efectos sistemáticos, “u” es el vector de efectos genéticos aditivos, “p” es el vector efectos aleatorios asociados al Rebaño-Año-Estación y “e” es el vector de residuos. Asociadas a las matrices de incidencia **X**, **Z** y **W** que relacionan los fenotipos con los efectos sistemáticos y genéticos aditivos, respectivamente.

Para los caracteres de Peso a los 90 días y Peso a los 210 días, se añadieron al modelo efectos maternos genéticos y ambientales: $y = Xb + Zu + Tm + Kp + Wp + e$. Donde **T** y **K** se corresponden a las matrices de incidencia, “m” a los efectos genéticos aditivos maternos y “p” son los efectos permanentes maternos.

Los efectos sistemáticos que se incluyeron en los modelos de evaluación se describen a continuación en la tabla 3.

Tabla 3. Efectos sistemáticos para cada carácter.

	Edad	Edad de la madre	Sexo	Matadero
Peso al Nacimiento	-	X	X	-
Peso a los 90 días	X	X	X	-
Peso a los 210 días	X	X	X	-
Peso de la Canal Fría	X	X	X	X
Conformación	X	X	X	X
Engrasamiento	X	X	X	X

En Peso al Nacimiento, Peso de la Canal Fría, Conformación y Engrasamiento, las varianzas correspondientes a los efectos aleatorios son las siguientes:

$$\text{var} \begin{bmatrix} u \\ p \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} H\sigma_a^2 & 0 & 0 \\ 0 & I\sigma_p^2 & 0 \\ 0 & 0 & I\sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

Por otro lado, para Peso a los 90 días y Peso a los 210 días las varianzas son las siguientes:

$$\text{var} \begin{bmatrix} u \\ m \\ d \\ p \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} H\sigma_a^2 & H\sigma_{am} & 0 & 0 & 0 \\ H\sigma_{am} & H\sigma_m^2 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & I\sigma_d^2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & I\sigma_p^2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & I\sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

En ambos modelos “ σ_a^2 ” corresponde a la varianza genética aditiva, “ σ_m^2 ” a la varianza genética materna, “ σ_{am} ” a la covarianza entre efectos genéticos directos y maternos, “ σ_d^2 ” a la varianza ambiental permanente materna, “ σ_p^2 ” a la varianza permanente asociada al Rebaño-Año-Estación y “ σ_e^2 ” a la varianza residual.

Según describió Aguilar et al (2010) “ I ” es la matriz de identidad y “ H ” es la matriz que combina la matriz de parentesco numerador con la matriz genómica e, cuya inversa es “ H^{-1} ”:

$$H^{-1} = A^{-1} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & G^{-1} - A_{22}^{-1} \end{bmatrix}$$

“ A ” se define como la matriz de parentesco numerador para todos los individuos, “ A_{22} ” como la matriz de parentesco numerador para animales genotipados y “ G ” es la matriz de parentesco genómico (VanRaden, 2008):

$$G = \frac{ZZ'}{\sum_{i=1}^N 2p_i(1-p_i)}$$

Donde “ Z ” se corresponde con una matriz de contenido de genes ajustada para “ p_i ” (las frecuencias alélicas de cada SNP) y “ N ” es el número de SNP (VanRaden, 2008).

Para el análisis de asociación de genoma completo (GWAS) se ha utilizado el programa *postGSf90* (Misztal et al., 2002) que obtiene las estimaciones de los efectos de los SNP (“ g ”) (Wang et al., 2012) con el siguiente procedimiento:

$$\hat{g} = \text{cov}(g, u') [\text{var}(u)] \hat{u}$$

$$\hat{g} = \frac{Z'G^{-1}\hat{u}}{\sum_{i=1}^N 2p_i(1-p_i)}$$

$$\hat{g} = Z'(Z'Z)^{-1}\hat{u}$$

Como consecuencia del desequilibrio de ligamiento entre marcadores, se ha utilizado la opción *windows_variance* del propio programa, *postGSf90*, para calcular el porcentaje de la varianza genética aditiva asociada a una región del genoma determinada por 50 marcadores SNP.

A continuación, se destacaron las regiones del genoma que explicaban un mayor porcentaje de la varianza genética aditiva. Se localizaron los genes presentes en estas regiones a través de BiomartTool (Ensembl, 2021), que utiliza la última versión del genoma bovino (*ARS-UCD1.2*), y se identificaron aquellos que por su función biológica pueden considerarse potenciales genes candidatos para explicar la variabilidad genética en los caracteres analizados.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. COMPONENTES DE VARIANZA Y HEREDABILIDAD

Los resultados de la estimación de componentes mediante máxima verosimilitud restringida utilizando el programa airemlf90 (Misztal et al., 2002) se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Estimación de los componentes de la varianza y heredabilidad.

	VA	VP	VE	h ²
PN	6.26	2.88	7.27	0.38
P90	286.99	19.2	1316.9	0.18
P210	721.35	586.72	861.73	0.33
PC	751.52	177.18	598.80	0.49
CON	0.101	0.019	0.056	0.57
ENG	0.044	0.023	0.065	0.33

Donde “VA” corresponde a la varianza genética aditiva, “VP” a la varianza permanente, “VE” a la varianza residual y “h²” a la heredabilidad.

Los resultados de la estimación de componentes de varianza y heredabilidad indicaron que existe un porcentaje importante de la variabilidad de los caracteres analizados que son explicadas por causas genéticas aditivas. Las estimaciones de heredabilidad variaron desde valores moderados (0.18 en P90), hasta muy altos (0.57 para CON), pero se encuentran dentro del rango de valores obtenidos por otros autores para este tipo de caracteres en otras poblaciones bovinas (Altarriba et al. 2009; Savoia et al., 2019)

6.2. PESO AL NACIMIENTO (PN):

Los resultados del barrido genómico del porcentaje de la varianza genética aditiva explicada por segmentos de 50 SNP se presentan en la figura 3.

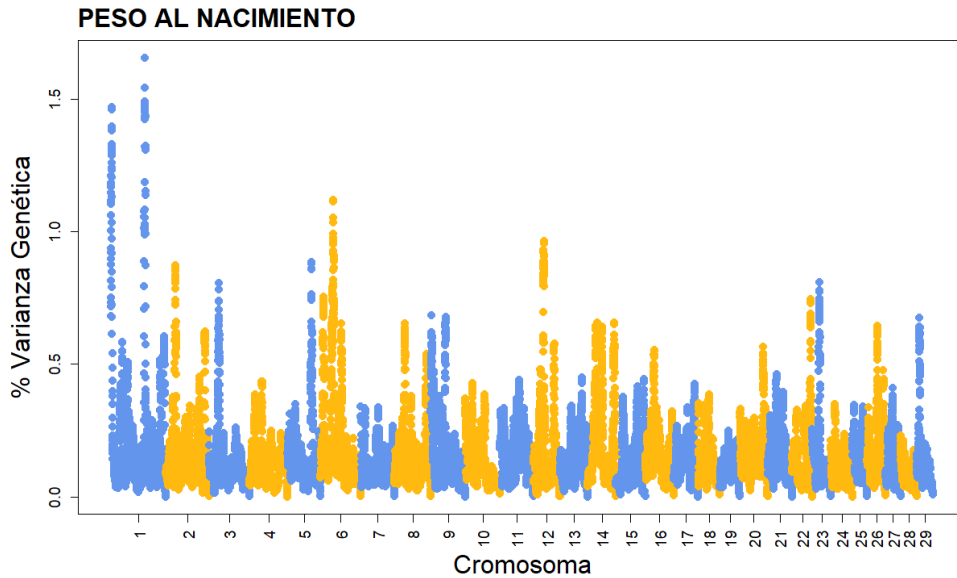


Figura 3. Porcentaje (%) de la varianza genética aditiva explicada por segmentos de 50 SNPs a lo largo de los autosomas para el carácter *Peso al Nacimiento* (PN).

En la figura se observa como la distribución es heterogénea a lo largo del genoma autosómico, y en ella se pueden destacar 3 regiones genómicas que superan el 1% de varianza genética explicada (dos de ellas localizadas en el cromosoma 1 (BTA1) y la tercera en el BTA6). En la siguiente tabla (tabla 5) se presentan los genes localizados dentro de estas regiones genómicas:

Tabla 5. Regiones del genoma asociadas con un porcentaje de la varianza genética explicada superior al 1% en *Peso al Nacimiento* (PN).

GENES PESO AL NACIMIENTO			
BTA 1	START 929617	END 1901058	VARIANZA 1.46%
RCAN1, KCNE1, SMIM11A, KCNE2, MRPS6, ATP5PO, ITS1N1			
BTA 1	START 100375832	END 103728420	VARIANZA 1.65%
BCHE, SLITRK3, SI			
BTA 6	START 38173166	END 38343712	VARIANZA 1.11%
-			

En la primera de las regiones genómicas, situada entre los pares de bases 929617 y 1901058 del cromosoma 1 (BTA1), se localizan 6 genes entre los que merecen ser destacados el gen MRPS6 (*Mitochondrial Ribosomal Protein S6*), que codifica una proteína mitocondrial implicada en el metabolismo energético y cuya expresión genética está asociada con vacas en distintos estados fisiológicos (Valour et al., 2014). Además, varios estudios han localizado QTL (*Quantitative Trait*

Loci) para caracteres de crecimiento en la cercanía de esta región (Snelling et al., 2010; Saatchi et al., 2014)

La segunda región se localiza también en el BTA1, aunque entre los pares de bases 100375832 y 103728420, y contiene 3 genes en el mapa genómico *ARS-UCD1.2*. Entre ellos, el *SI (Sucrase-Isomaltase)* que está implicado en el metabolismo de glúcidos (Sander et al., 2005) y también se localiza en la cercanía de QTL previamente identificados (Snelling et al., 2010).

Finalmente, la última región genómica para Peso al Nacimiento (PN) se localiza en el BTA6. En ella no se ha localizado ningún gen, pero se encuentra en la cercanía de una región identificada en números estudios (Olsen et al 2005; Eberlein et al, 2009; Setoguchi et al., 2009; Saatchi et al., 2014) y que contiene a los genes *LCORL (Ligand dependent nuclear receptor corepressor like)* y *NCAPG (Condensin complex subunit 3)*.

6.3. PESO A LOS 90 DÍAS (P90):

Los resultados del barrido genómico del porcentaje de la varianza genética aditiva explicada por segmentos de 50 SNP se presentan en la figura 4.

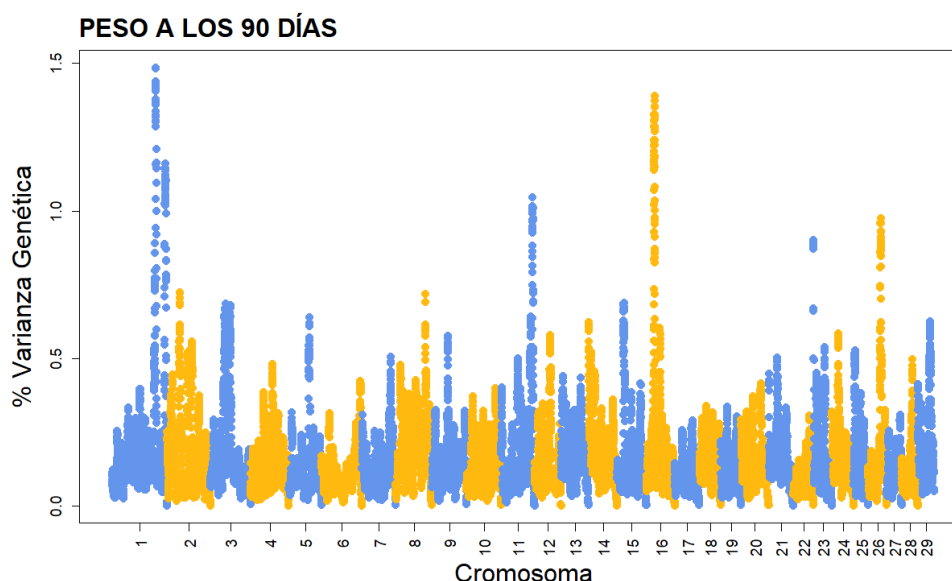


Figura 4. Porcentaje (%) de la varianza genética aditiva explicada por segmentos de 50 SNPs a lo largo de los autosomas para el carácter Peso a los 90 días (P90).

En ella se pueden destacar las regiones genómicas localizadas en el BTA1 (2 regiones), en BTA11 y en BTA 16, que superan el 1% de varianza genética explicada. En la siguiente tabla (tabla 6) se encuentran los genes localizados dentro de dichas regiones genómicas:

Tabla 6. Regiones del genoma asociadas con un porcentaje de la varianza genética explicada superior al 1% en Peso a los 90 días (P90).

GENES PESO A LOS 90 DÍAS			
BTA 1	START 131865531	END 132451691	VARIANZA 1.48%
IL20RB, NCK1, SLC35G2			
BTA 1	START 153249283	END 155241721	VARIANZA 1.16%
DPH3, OXNAD1, DAZL, PLCL2, TBC1D5			
BTA 11	START 99930785	END 100545442	VARIANZA 1.04%
C11H9orf50, NTMT1, ASB6, PRRX2, PTGES, TOR1A, C11H9orf78, USP20, FNBP1, GPR107, NCS1			
BTA 16	START 24881408	END 25767394	VARIANZA 1.39%
DUSP10			

La primera región genómica destacada para este carácter se encuentra en BTA1, entre las pares de bases 131865531 y 132451691, donde se han localizado 3 genes. Entre los cuales se identifica al gen NCK1 (*NCK Adaptor Protein 1*), que está relacionado con la obesidad en humanos, ya que modula el desarrollo del tejido adiposo blanco WAT (*white adipose tissue*) a través de la remodelación de preadipocitos y dependiente de PDGFR α en humanos y ratones (Haider et al., 2018). Además, ha sido asociado con tolerancia a la glucosa en ratones (Latreille et al., 2011), y, en vacuno de carne, ha sido identificado como un posible gen candidato para caracteres de crecimiento por Seabury et al. (2017). El gen NCK1 también ha sido asociado con caracteres de crecimiento en la raza de vacuno de carne Rubia Gallega (Martinez-Castillero et al., 2021) y en otras poblaciones de vacuno (Snelling et al., 2010).

La segunda región también se localiza en BTA1, aunque entre los pares de bases 153249283 y 155241721. En ella se han identificado 5 genes, entre los que destaca el gen TBC1D5 (*TBC1 Domain Family Member 5*) que se ve involucrado en la translocación de GLUT1 y la captación de glucosa (Roy et al., 2017).

La tercera de región se localiza en el BTA11, entre los genes localizados en dicha región destaca el gen TOR1A (*torsin family 1 member*) que codifica un regulador del metabolismo celular lipídico (Grillet et al., 2016). Además, el USP20 (*Ubiquitin Specific Peptidase 20*) que está implicado en el metabolismo de la glucosa y la biosíntesis del colesterol (Lu et al., 2020). Por último, el gen NCS1 (*Neuronal Calcium Sensor 1*) está relacionado con la obesidad en ratones (Ratai et al., 2019). Por otro lado, esta región también ha sido identificada por Snelling et al. (2010) como portadora de un QTL para el crecimiento en ganado vacuno cruzado.

El cuarto segmento con varianza superior al 1% para este carácter, comprende entre los pares de bases 24881408 y 25767394 del BTA16, en él se ha localizado un gen. Este segmento se localiza en la cercanía del gen *BPNT1* (3'(2'), *5'-Bisphosphate Nucleotidase 1*), que está relacionado con el contenido de grasa intramuscular (Hay y Roberts, 2018), con la edad a la que se alcanza pubertad (Melo et al., 2019) y también ha sido asociado con la variabilidad genética en la raza Blonde d'Aquitaine (Michenet et al., 2016).

6.4. PESO A LOS 210 DÍAS (P210):

Los resultados del barrido genómico del porcentaje de la varianza genética aditiva explicada por segmentos de 50 SNP se presentan en la figura 5.

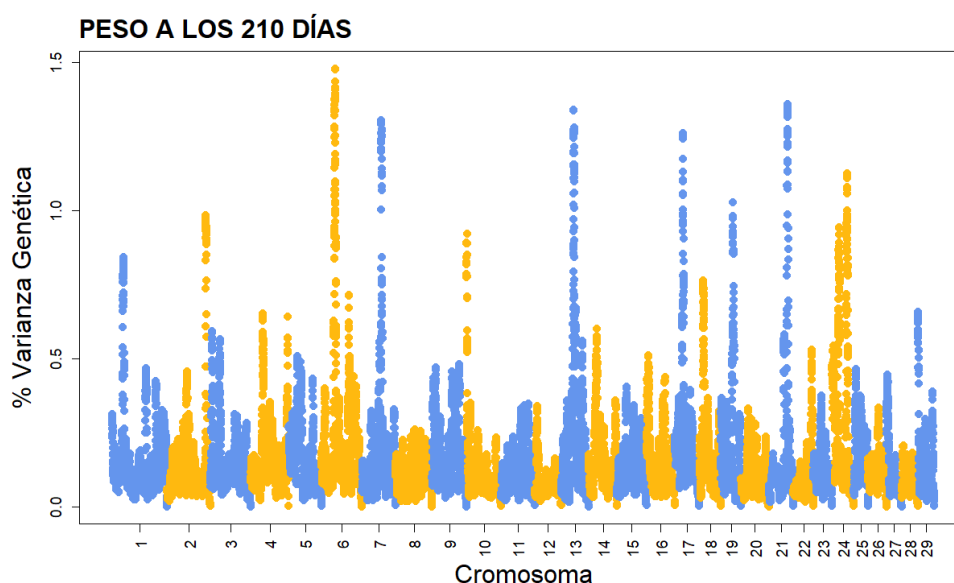


Figura 5. Porcentaje (%) de la varianza genética aditiva explicada por segmentos de 50 SNPs a lo largo de los autosomas para el carácter Peso a los 210 días (P210).

En la figura se pueden destacar 7 regiones genómicas localizadas en el BTA6, BTA7, BTA13, BTA17, BTA19, BTA21 y BTA24, que superan el 1% de varianza genética explicada. En la siguiente tabla (tabla 7) se encuentran los genes localizados dentro de las 7 regiones genómicas:

Tabla 7. Regiones del genoma asociadas con un porcentaje de la varianza genética explicada superior al 1% en Peso a los 210 días (P210).

GENES PESO A LOS 210 DÍAS			
BTA6	START 37925393	END 40770870	VARIANZA 1.48%
SLIT2, PACRGL, KCNIP4			
BTA7	START 67097507	END 69482116	VARIANZA 1.29%
SGCD, TIMD4, HAVCR2, MED7, ITK, CYFIP2, NIPAL4, ADAM19, SOX30, THG1L, LSM11, CLINT1			
BTA13	START 38462778	END 40594414	VARIANZA 1.37%
DZANK1, POLR3F, RBBP9, SEC23B, SMIM26, DTD1, SCP2D1, SLC24A3, RIN2, NAA20, CRNKL1, CFAP61, INSM1, RALGAPA2, SNORA70, KIZ			
BTA17	START 22442123	END 23657667	VARIANZA 1.26%
-			
BTA19	START 42066750	END 42066750	VARIANZA 1.03%
ACLY			
BTA21	START 57534747	END 57719367	VARIANZA 1.36%
CHGA, ITPK1			
BTA24	START 43919738	END 45300946	VARIANZA 1.12%
SETBP1, 7SK			

La primera región se localiza en el BTA6, entre las pares de bases 37925393 y 40770870, en ella se localizan 3 genes. Entre los que se destaca el SLIT2 (*Slit Guidance Ligand 2*) que regula la termogénesis del tejido adiposo (Svensson et al., 2016) y se ha vinculado con el peso de los órganos internos del ganado: el peso del corazón, el peso del hígado, el peso del bazo, el peso de los pulmones y el peso de los riñones (An et al, 2018). También señalar el gen PACRGL (*Parkin Coregulated Like*) que se ha relacionado con el índice de masa corporal, los rasgos de la canal y composición corporal (Moravčíková et al, 2019). Esta región genómica, como ya se ha comentado anteriormente en PN, se encuentra en la cercanía de una región identificada en números estudios, donde se destaca el gen LCORL (*Ligand dependent nuclear receptor corepressor like*) y el gen NCAPG (*Condensin complex subunit 3*).

En BTA7 se encuentra la segunda región, en ella se localizan 12 genes. Entre ellos destaca el TIMD4 (*T Cell Immunoglobulin And Mucin Domain Containing 4*) que se ha asociado con niveles reducidos de triglicéridos (Khounphinith et al., 2019) y el gen ADAM19 (*ADAM Metallopeptidase Domain 19*) que está involucrado en el desarrollo muscular (Neuner et al., 2009).

En la región del cromosoma 13 se han localizado 16 genes, entre estos genes destaca el gen *DZANK1 (Double Zinc Ribbon And Ankyrin Repeat Domains 1)* que presenta relación para el carácter de profundidad de la grasa (Ali et al., 2015). Además, el gen *RIN2 (Ras and Rab interactor 2)* que está significativamente asociado al crecimiento y las características de la canal de los pollos (Ren et al., 2020). Por otro lado, los genes *SLC24A3 (Solute Carrier Family 24 Member 3)* y *CFAP61 (cilia and flagella associated protein 61)* están relacionados con un potencial papel el metabolismo de los lípidos (Pei et al., 2017).

La cuarta región cuya varianza genética aditiva supera el 1%, se localiza en el BTA 17 entre los pares de bases 22442123 y 23657667 y en ella no se ha identificado ningún gen.

En la quinta región genómica, localizada en la cercanía a 42066750 del BTA19, se ha localizado el gen *ACLY (ATP Citrate Lyase)* que está involucrado en la regulación de los niveles de expresión de varios genes claves en la adipogénesis (Ghimire y Kim, 2021).

Entre los pares de bases 57534747 y 57719367 del BTA21, se encuentra la sexta región, donde se han localizado 2 genes. Se destaca el *CHGA (Cromogranina A)*, es un gen precursor de la pancreastatina, que reduce la captación de glucosa en aproximadamente un 48-50% (O'Connor et al., 2005).

Finalmente, en la última región genómica localizada en el BTA 24 se han localizado 2 genes pero no se ha identificado ninguna relación aparente con el carácter analizado.

6.5. PESO DE LA CANAL FRÍA (PC):

Los resultados del barrido genómico del porcentaje de la varianza genética aditiva explicada por segmentos de 50 SNP para el carácter Peso de la Canal Fría (PC) se presentan en la figura 6.

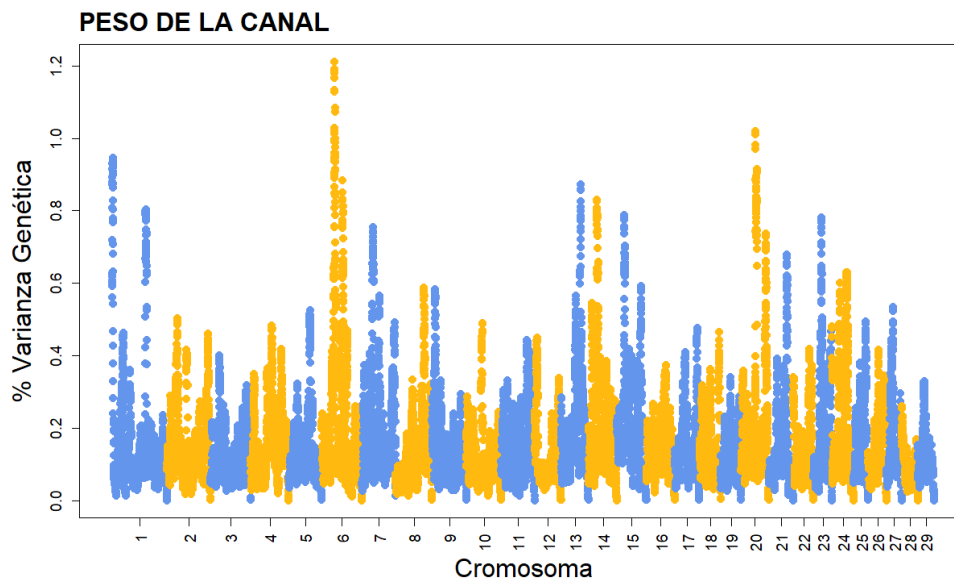


Figura 6. Porcentaje (%) de la varianza genética aditiva explicada por segmentos de 50 SNPs a lo largo de los autosomas para el carácter Peso de la canal fría (PC).

En la figura se observa que únicamente superan el 1% de varianza genética explicada 2 regiones genómicas (tabla 8) localizadas en el BTA6 y en el BTA20:

Tabla 8. Regiones del genoma asociadas con un porcentaje de la varianza genética explicada superior al 1% en Peso de la Canal fría (PC).

GENES PESO DE LA CANAL FRÍA			
BTA6	START 37463048	END 38808645	VARIANZA 1.21%
LCORL			
BTA20	START 37412305	END 37468100	VARIANZA 1.02%
-			

La primera de las regiones se localiza entre los pares de bases 37463048 y 38808645 del cromosoma 6, y se corresponde con la misma región genómica que se identificó anteriormente para Peso al Nacimiento (PN) y Peso a los 210 días (P210). En la segunda de las regiones (BTA20), no se ha localizado ningún gen.

6.6. CONFORMACIÓN (CON):

Los resultados del barrido genómico del porcentaje de la varianza genética aditiva explicada por segmentos de 50 SNP se presentan en la figura 7.

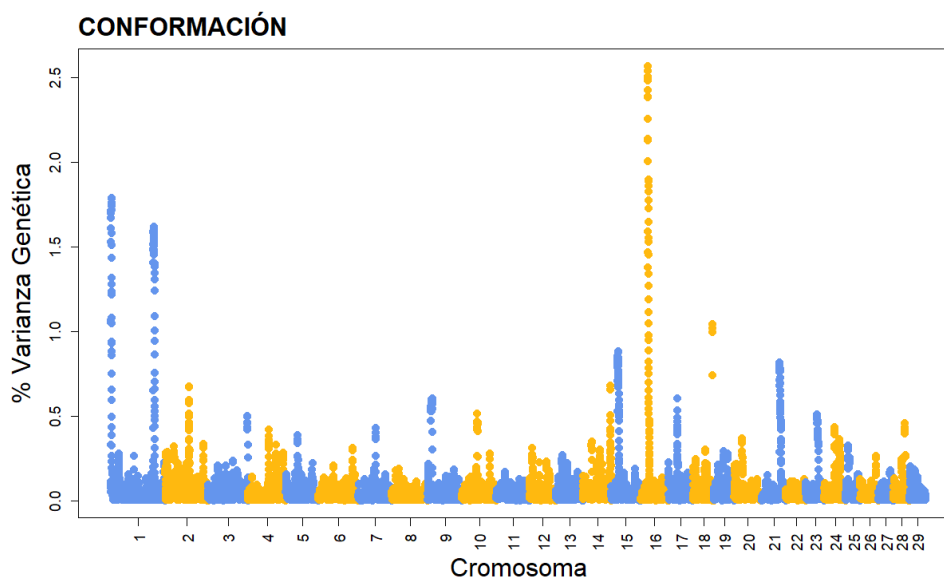


Figura 7. Porcentaje (%) de la varianza genética aditiva explicada por segmentos de 50 SNPs a lo largo de los autosomas para el carácter Conformación (CON).

En la figura se observan 4 regiones genómicas que superan el 1% de varianza genética explicada, dos de ellas localizadas en el BTA1 y el resto en BTA16 y BTA18. En la siguiente tabla (tabla 9) se presentan los genes localizados en las regiones destacadas:

Tabla 9. Regiones del genoma asociadas con un porcentaje de la varianza genética explicada superior al 1% en Conformación (CON).

GENES CONFORMACIÓN			
BTA1	START 929617	END 1868544	VARIANZA 1.07%
RCAN1, KCNE1, SMIM11A, KCNE2, MRPS6, ATP5PO, ITSN1			
BTA1	START 131642361	END 132470233	VARIANZA 1.10%
IL20RB, NCK1, SLC35G2			
BTA16	START 24874723	END 25748897	VARIANZA 2.16%
DUSP10			
BTA18	START 64606429	END 64647807	VARIANZA 1.04%
ZNF548			

En la primera región genómica, situada entre los pares de bases 929617 y 1868544 del BTA1, encontramos 7 genes. Se corresponde con la misma región localizada para el Peso al Nacimiento (PN), ya mencionada anteriormente.

La segunda región del BTA1 se localiza entre los pares de bases 131642361 y 132470233, esta misma región se corresponde con la que se ha descrito con anterioridad en el carácter Peso a los 90 días (P90).

La región localizada en el BTA16 explica un alto porcentaje de variabilidad y se corresponde con una región genómica ya descrita en el carácter Peso a los 90 días (P90). Finalmente, la última región se localizó en el BTA18, aunque el gen identificado en su interior no tiene ninguna relación aparente con la Conformación.

6.7. ENGRASAMIENTO (ENG):

Los resultados del barrido genómico del porcentaje de la varianza genética aditiva explicada por segmentos de 50 SNP se presentan en la figura 8.

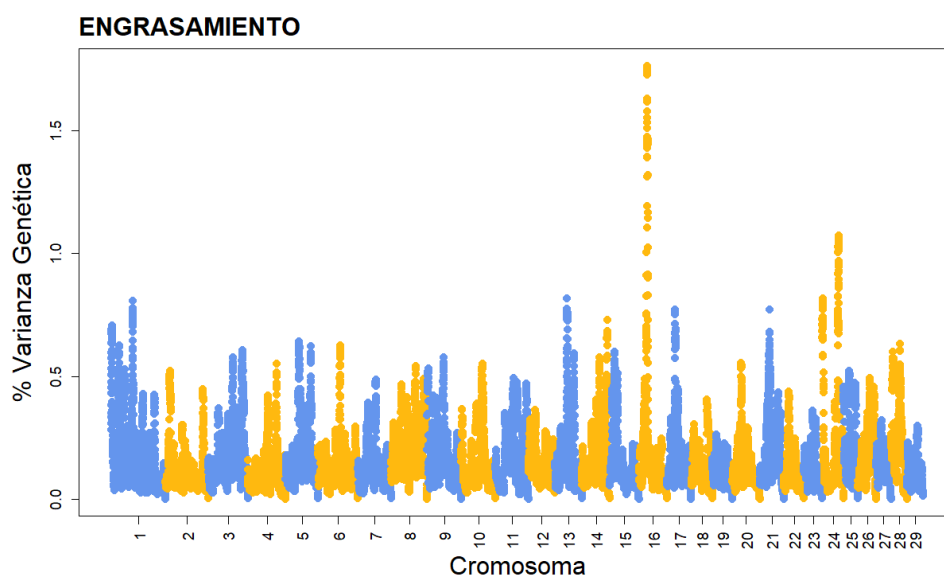


Figura 8. Porcentaje (%) de la varianza genética aditiva explicada por segmentos de 50 SNPs a lo largo de los autosomas para el carácter Engrasamiento (ENG).

En la figura anterior se observa como la distribución es heterogénea a lo largo del genoma autosómico, y en ella se pueden destacar 2 regiones genómicas que superan el 1% de varianza genética explicada, en BTA16 y BTA24. En la tabla (tabla 10) se presentan los genes localizados en ambas regiones genómicas:

Tabla 10. Regiones del genoma asociadas con un porcentaje de la varianza genética explicada superior al 1% en Engrasamiento.

GENES ENGRASAMIENTO			
BTA16	START 25630048	END 25949459	VARIANZA 1.76%
-			
BTA24	START 47323079	END 47936702	VARIANZA 1.07%
SMAD2, ZBTB7C			

La primera región genómica destacada para Engrasamiento se encuentra en BTA16 y no contiene ningún gen es su interior. Sin embargo, se encuentra en la cercanía de una región ya mencionada anteriormente para los caracteres de P90 y CON.

La segunda de las regiones se localiza en el BTA24 entre los pares de bases 47323079 y 47936702, y se han identificado 2 genes dentro de ella. Entre ellos, el gen SMAD2 (*SMAD Family Member 2*) ha sido asociado en ratones con anomalías en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos y su relación con la obesidad (Seong et al., 2018). Además, se ha identificado un QTL en esta misma región del genoma para peso de la canal en la raza Ángus (Mateescu et al., 2017).

6.8 COMENTARIOS FINALES:

En los resultados obtenidos para los diferentes caracteres se han registrado regiones genómicas cuyos genes estaban relacionados con un único carácter, sin embargo, genes de ciertas regiones que superaban el 1% de varianza genética se han visto relacionados en más de un carácter (tabla 11). Esto se debe a que hay genes que tienen efecto sobre un único carácter y otros que afectan a múltiples caracteres, estos últimos son los denominados genes pleiotrópicos, y contribuyen a la correlación genética entre los caracteres analizados que se había constatado previamente en análisis mediante estimación de componentes de varianza multicarácter (Altarriba et al., 2009).

Tabla 11. Regiones genómicas implicadas para más de un carácter.

BTA	Posición	PN	P90	P210	PC	CON	ENG
1	929617-1901058	X				X	
1	131642361-132470233		X			X	
6	37463048-40770870	X		X	X		
16	24874723-25949459		X			X	X
24	43919728-47930702			X			X

Los resultados obtenidos proporcionan una visión que, en un futuro, puede permitir el desarrollo de modificaciones en los procedimientos de valoración genética y genómica en la población de la raza bovina Pirenaica. En la actualidad, el establecimiento de la valoración genómica se encuentra en las fases iniciales y se debe tener en cuenta que este procedimiento asume que todos los marcadores SNP presentan la misma relación con la variabilidad genética del carácter a estudiar. Sin embargo, como se ha observado en los resultados de numerosos estudios (Zhang et al., 2016; Fang y Pausch, 2019), existen regiones genómicas con mayor implicación que otras en la regulación de los caracteres de interés. Por ello, sería de gran interés la utilización de procedimientos que permitan la ponderación de los marcadores SNP para cada carácter.

7. CONCLUSIONES

Tras los resultados obtenidos en este trabajo se han extraído las siguientes conclusiones:

1. Se ha detectado que la influencia de las zonas del genoma en la variabilidad genética aditiva de los caracteres de interés en el plan de mejora de la población de la vaca Pirenaica es heterogénea a lo largo del genoma.
2. Se ha confirmado que en algunas regiones del genoma existen genes pleiotrópicos que explican las correlaciones genéticas entre los caracteres de crecimiento y características de la canal.
3. Se han identificado cinco regiones del genoma, localizadas en cromosomas 1, 6, 16, y 24, que afectan a dos o más de los caracteres estudiados.
4. Se han determinado potenciales genes candidatos tras analizar las regiones con mayor influencia en la variabilidad genética aditiva, que posteriormente deben ser confirmados con los resultados de futuros estudios.

8. CONCLUSIONS

According to the results obtained in this work, the following conclusions have been drawn:

1. It has been detected that the influence of genome zones on the additive genetic variability of the traits of interest in the improvement plan of the Pirenaica beef cattle population is heterogeneous along the genome.
2. It has been confirmed that in some regions of the genome there are pleiotropic genes that explain the genetic correlations between growth traits and carcass characteristics.
3. Five regions of the genome, located on chromosomes 1, 6, 16, and 24, have been identified that affect two or more of the traits studied.
4. Potential candidate genes have been determined after analyzing the regions with the greatest influence on additive genetic variability, which should be confirmed with the results of future studies.

9. VALORACIÓN PERSONAL

Durante la realización de este Trabajo Fin de Grado he podido afianzar conocimientos ya adquiridos durante la carrera en el campo de la genética y, a su vez, me ha permitido adquirir otros muchos nuevos. Introducirme en los niveles iniciales del lenguaje de la programación informática y el ámbito de la estadística. Por otro lado, he aprendido a realizar la búsqueda de información de manera más metódica y eficaz, buscando artículos de interés y filtrando la información que pudiera ser de mayor relevancia y utilidad. Completando, con todo ello, mi formación como futura profesional en el ámbito de la veterinaria.

Decidí hacer el trabajo sobre la genética aplicada en la raza bovina Pirenaica, ya que considero el estudio de la rama de la genética una herramienta muy útil, a la vez que compleja, con la que se han logrado realizar grandes avances en los últimos años. Su desarrollo junto al de las nuevas tecnologías nos ha permitido no solo alcanzar grandes metas a nivel de productividad, si no también conseguir la identificación de genes relacionados con caracteres propios de cada raza para su mantenimiento (proporcionando una mayor diversidad, al no centrarnos únicamente en los índices de producción). Otra de las razones que me animó a la elección de este tema en concreto, es que la raza Pirenaica es muy común en la Comarca del Sobrarbe (Huesca), donde me he criado y vivido durante 25 años.

Con la realización del Trabajo de Fin de Grado pretendía aportar información que pudiera resultar útil en un futuro. En este caso, los resultados obtenidos han ayudado a la determinación de potenciales genes candidatos sobre la variabilidad de los caracteres estudiados, pudiendo ser posteriormente corroborado por otros estudios.

Por último, mostrar mi agradecimiento a CONASPI por proporcionar los datos fenotípicos procedentes de la base de datos utilizados en el esquema de selección de la Raza Bovina Pirenaica para la realización del trabajo. Agradecer también a Luis Varona Aguado, Maria Martinez Castellero y Marco Aurelio Ramirez Mauricio por toda la ayuda proporcionada durante la realización del mismo.

10. BIBLIOGRAFÍA:

Aguilar, I., Misztal, I., Johnson, D. L., Legarra, A., Tsuruta, S. y Lawlor, T. J. (2010). "Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score". *Journal of Dairy Science*, 93(2), pp. 743-752. DOI: 10.3168/jds.2009-2730

Ali, A. A., Khatkar, M. S., Kadarmideen, H. N. y Thomson, P. C. (2015). "Additive and epistatic genome-wide association for growth and ultrasound scan measures of carcass-related traits in Brahman cattle". *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 132(2), pp. 187-197. DOI: 10.1111/jbg.12147

Altarriba, J., Yagüe, G., Moreno, C. y Varona, L. (2009). "Exploring the possibilities of genetic improvement from traceability data". *Livestock Science*, 125(2-3), pp. 115-120. DOI: 10.1016/j.livsci.2009.03.013

An, B., Xia, J., Chang, T., Wang, X., Miao, J., Xu, L., Zhang, L., Gao, X., Chen, Y., Li, J. y Gao, H. (2018). "Genome-wide association study identifies loci and candidate genes for internal organ weights in simmental beef cattle". *Physiological Genomics*, 50(7), pp. 523-531. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00022.2018

BOE (Boletín Oficial del Estado) (2008). BOE nº 56. Disponible en: <https://www.boe.es/boe/dias/2008/03/05/pdfs/A13309-13319.pdf> [Consultado 10-11-2021]

Bongiorni, S., Mancini, G., Chillemi, G., Pariset, L. y Valentini, A. (2012). "Identification of a short region on chromosome 6 affecting direct calving ease in Piedmontese cattle breed". *PLOS ONE*, 7(12), e50137. DOI: 10.1371/journal.pone.0050137

Chen, Y., Zhu, J., Lum, P. Y., Yang, X., Pinto, S., MacNeil, D. J., Zhang, C., Lamb, J., Edwards, S., Sieberts, S. K., Leonardson, A., Castellini, L. W., Wang, S., Champy, M., Zhang, B., Emilsson, V., Sudheer, D., Ghazalpour, A., Horvath, S., Drake, T. D., Lusk, A. J. y Schadt E. E. (2008). "Variations in DNA elucidate molecular networks that cause disease". *Nature*, 452(7186), pp. 429-435. DOI: 10.1038/nature06757

CONASPI (Confederación de Asociaciones de Ganado Vacuno Pirenaico) (2020). La Raza Pirenaica. Disponible en: <http://www.conaspi.net/vercontenido.asp?conid=11359&tipconid=22&menid=&web=22> [Consultado 13-09-2021]

Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal (2011). Programa de mejora de la raza bovina Pirenaica. Disponible en: <http://www.conaspi.es/verdocumento.asp?iddoc=5519> [Consultado 25-09-2021]

Eberlein A., Takasuga A., Setoguchi K., Pfuhl R., Flisikowski K., Fries R., Klopp N., Furbass R., Weikard R. y Kuhn C. (2009). "Dissection of genetic factors modulating fetal growth in cattle indicates a substantial role of the non-SMC condensin I complex, subunit G (NCAPG) gene". *Genetics*, 183(3), pp. 951-964. DOI: 10.1534/genetics.109.106476

Echeveria T. y Asarta A. (1976). "El ganado vacuno de la raza Pirenaica en Navarra". *Pastos*, 6 (2), pp. 213-234. Disponible en: <http://polired.upm.es/index.php/pastos/article/view/602> [Consultado 01-11-2021]

Ensembl (2021). Ensembl release 104. Disponible en: <https://www.ensembl.org/index.html> [Consultado el 20-09-2021]

Fang, Z. H. y Pausch, H. (2019). "Multi-trait meta-analyses reveal 25 quantitative trait loci for economically important traits in Brown Swiss cattle". *BMC Genomics*, 20(1), 695. DOI: 10.1186/s12864-019-6066-6

Fernando, R., Toosi, A., Wolc, A., Garrick, D. y Dekkers, J. (2017). "Application of whole-genome prediction methods for genome-wide association studies: a Bayesian approach". *Journal of Agricultural, Biological and Environmental Statistics*, 22(2), pp. 172-193. DOI: 10.1007/s13253-017-0277-6

Georges, M. (2007). "Mapping, fine mapping, and molecular dissection of quantitative trait loci in domestic animals". *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 8(1), pp. 131-162. DOI: 10.1146/annurev.genom.8.080706.092408

Ghimire, S. y Kim, J. (2021). "PEG3 controls lipogenesis through ACLY". *PLOS ONE*, 16(5), e0252354. DOI: 10.1371/journal.pone.0252354

González-Rodríguez, A., Munilla, S., Mouresan, E. F., Cañas-Álvarez, J. J., Baro, J. A., Molina, A., Díaz, C., Altarriba, J., Piedrafita, J. y Varona, L. (2017). "Genomic differentiation between Asturiana de los Valles, Avileña-Negra Ibérica, Bruna dels Pirineus, Morucha, Pirenaica, Retinta and Rubia Gallega cattle breeds". *Animal*, 11(10), pp. 1667–1679. DOI: 10.1017/s1751731117000398

Grillet, M., Dominguez Gonzalez, B., Sicart, A., Pöttler, M., Cascalho, A., Billion, K., Hernandez Diaz, S., Swerts, J., Naismith, T. V., Gounko, N. V., Verstreken, P., Hanson, P. I. y Goodchild, R. E.

(2016). "Torsins are essential regulators of cellular lipid metabolism". *Developmental Cell*, 38(3), pp. 235-247. DOI: 10.1016/j.devcel.2016.06.017

Groenen, M. A. M. et al., (2012). "Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution". *Nature*, 491(7424), pp. 393-398. DOI: 10.1038/nature11622

Gutiérrez-Gil, B., Arranz, J. J. y Wiener, P. (2015). "An interpretive review of selective sweep studies in *Bos taurus* cattle populations: identification of unique and shared selection signals across breeds". *Frontiers in Genetics*, 6, 167. DOI: 10.3389/fgene.2015.00167

Haider, N., Dusseault, J. y Larose, L. (2018). "NCK1 deficiency impairs adipogenesis by activation of PDGFR α in preadipocytes". *IScience*, 6, pp. 22-37. DOI: 10.1016/j.isci.2018.07.010

Haley, C. S. y Knott, S. A., (1992). "A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers". *Heredity*, 69(4), pp. 315-324. DOI: 10.1038/hdy.1992.131

Hay, E. H. y Roberts, A. (2018). "Genotype \times prenatal and post-weaning nutritional environment interaction in a composite beef cattle breed using reaction norms and a multi-trait model". *Journal of Animal Science*, 96(2), pp. 444-453. DOI: 10.1093/jas/skx057

Henderson, C. R. (1984). *Applications of linear models in animal breeding*. Guelph (Ontario): University of Guelph.

Horikoshi, M. et al. (2012). "New loci associated with birth weight identify genetic links between intrauterine growth and adult height and metabolism". *Nature Genetics*, 45(1), pp. 76-82. DOI: 10.1038/ng.2477

Hoshihara, H., Setoguchi, K., Watanabe, T., Kinoshita, A., Mizoshita, K., Sugimoto, Y. y Takasuga, A. (2013). "Comparison of the effects explained by variations in the bovine PLAG1 and NCAPG genes on daily body weight gain, linear skeletal measurements and carcass traits in Japanese Black steers from a progeny testing program". *Animal Science Journal*, 84(7), pp. 529-534. DOI: 10.1111/asj.12033

Khounphinith, E., Yin, R.-X., Cao, X.-L., Huang, F., Wu, J.-Z. y Li, H. (2019). "TIMD4 rs6882076 SNP is associated with decreased levels of triglycerides and the risk of coronary heart disease and ischemic stroke". *International Journal of Medical Sciences*, 16(6), pp. 864-871. DOI: 10.7150/ijms.31729

Lander, E. S. y Botstein, D. (1989). "Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps". *Genetics*, 121(1), pp. 185-199. DOI: 10.1093/genetics/121.1.185

- Latreille, M., Laberge, M.-K., Bourret, G., Yamani, L. y Larose, L. (2011). "Deletion of NCK1 attenuates hepatic ER stress signaling and improves glucose tolerance and insulin signaling in liver of obese mice". *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 300(3), pp. e423-e434. DOI: 10.1152/ajpendo.00088.2010
- Legarra, A., Ricard, A. y Varona, L. (2018). "GWAS by GBLUP: single and multimarker EMMAX and bayes factors, with an example in detection of a major gene for horse gait". *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 8(7), pp. 2301-2308. DOI: 10.1534/g3.118.200336
- Lindholm-Perry, A. K., Sexten, A. K., Kuehn, L. A., Smith, T. P., King, D. A., Shackelford, S. D., Wheeler, T. L., Ferrell, C. L., Jenkins, T. G., Snelling, W. M. y Freetly, H. C. (2011). "Association, effects and validation of polymorphisms within the NCAPG - LCORL locus located on BTA6 with feed intake, gain, meat and carcass traits in beef cattle". *BMC Genetics*, 12(1), 103. DOI: 10.1186/1471-2156-12-103
- Lu, X.-Y., Shi, X.-J., Hu, A., Wang, J.-Q., Ding, Y., Jiang, W., Sun, M., Zhao, X., Luo, J., Qi, W. y Song, B.-L. (2020). "Feeding induces cholesterol biosynthesis via the mTORC1–USP20–HMGCR axis". *Nature*, 588(7838), pp. 479-484. DOI: 10.1038/s41586-020-2928-y
- Martinez, J. C. (2019). Todocarne. Disponible en: <https://todocarne.es/razas-de-vacunopirenaica/> [Consultado 22-09-2021].
- Martinez-Castillero, M., Then, C., Altarriba, J., Srihi, H., López-Carbonell, D., Díaz, C., Martínez, P., Hermida, M. y Varona, L. (2021). "Detection of genomic regions with pleiotropic effects for growth and carcass quality traits in the Rubia Gallega cattle breed". *Animals*, 11(6), 1682. DOI: 10.3390/ani11061682
- Mateescu, R. G., Garrick, D. J. y Reecy, J. M. (2017). "Network analysis reveals putative genes affecting meat quality in Angus cattle". *Frontiers in Genetics*, 8, 171. DOI: 10.3389/fgene.2017.00171
- Melo, T. P., Fortes, M. R. S., Fernandes Junior, G. A., Albuquerque, L. G. y Carneiro, R. (2019). "RAPID COMMUNICATION: Multi-breed validation study unraveled genomic regions associated with puberty traits segregating across tropically adapted breeds¹". *Journal of Animal Science*, 97(7), pp. 3027–3033. DOI: 10.1093/jas/skz121
- Metzger, J., Schrimpf, R., Philipp, U. y Distl, O. (2013). "Expression levels of LCORL are associated with body size in horses". *PLOS ONE*, 8(2), e56497. DOI: 10.1371/journal.pone.0056497

- Meuwissen, T. H. E., Hayes, B. J. y Goddard, M. E. (2001). "Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps". *Genetics*, 157(4), pp. 1819-1829. DOI: 10.1093/genetics/157.4.1819
- Michenet, A., Barbat, M., Saintilan, R., Venot, E. y Phocas, F. (2016). "Detection of quantitative trait loci for maternal traits using high-density genotypes of Blonde d'Aquitaine beef cattle". *BMC Genetics*, 17(1), 88. DOI: 10.1186/s12863-016-0397-y
- Misztal, I., Tsuruta, S., Strabel, T., Auvray, B., Druet, B., y Lee, D. H. (2002). "BLUPF90 AND RELATED PROGRAMS (BGF90)". In *Proceeding of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Montpellier (France), 19-23 Agosto 2002. pp. 1-2.
- Moravčíková, N., Trakovická, A., Kadlečík, O. y Kasarda, R. (2019). "Genomic signatures of selection in cattle through variation of allele frequencies and linkage disequilibrium". *Journal of Central European Agriculture*, 20(2), pp. 576-580. DOI: 10.5513/jcea01/20.2.2552
- Nayeri, S., Sargolzaei, M., Abo-Ismael, M. K., May, N., Miller, S. P., Schenkel, F., Moore, S. S. y Stothard, P. (2016). "Genome-wide association for milk production and female fertility traits in Canadian dairy Holstein cattle". *BMC Genetics*, 17(1), 75. DOI: 10.1186/s12863-016-0386-1
- Neuner, R., Cousin, H., McCusker, C., Coyne, M. y Alfandari, D. (2009). "Xenopus ADAM19 is involved in neural, neural crest and muscle development". *Mechanisms of Development*, 126(3-4), pp. 240-255. DOI: 10.1016/j.mod.2008.10.010
- Nishimura, S., Watanabe, T., Mizoshita, K., Tatsuda, K., Fujita, T., Watanabe, N., Sugimoto, Y. y Takasuga, A. (2012). "Genome-wide association study identified three major QTL for carcass weight including the PLAG1-CHCHD7 QTN for stature in Japanese Black cattle". *BMC Genetics*, 13(1), 40. DOI: 10.1186/1471-2156-13-40
- O'Connor, D. T., Cadman, P. E., Smiley, C., Salem, R. M., Rao, F., Smith, J., Funk, S. D., Mahata, S. K., Mahata, M., Wen, G., Taupenot, L., Gonzalez-Yanes, C., Harper, K. L., Henry, R. R. y Sanchez-Margalet, V. (2005). "Pancreastatin: multiple actions on human intermediary metabolism in vivo, variation in disease, and naturally occurring functional genetic polymorphism". *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(9), pp. 5414-5425. DOI: 10.1210/jc.2005-0408
- Olsen, H.G., Lien, S., Gautier, M., Nilsen, H., Roseth, A., Berq, P.R., Sundsaasen, K.K., Svendsen, M. y Meuwissen, T.H.E. (2005). "Mapping of a milk production quantitative trait locus to a 420-kb region on bovine chromosome 6". *Genetics*, 169(1), pp. 275-383. DOI: 10.1534/genetics.104.031559

- Patterson, H. D. y Thompson, R. (1971). "Recovery of inter-block information when block sizes are unequal". *Biometrika*, 58(3), pp. 545-554. DOI: 10.1093/biomet/58.3.545
- Pegolo, S., Cecchinato, A., Savoia, S., Di Stasio, L., Pauciullo, A., Brugiapaglia, A., Bittante, G. y Albera, A. (2020). "Genome-wide association and pathway analysis of carcass and meat quality traits in Piemontese young Bulls". *Animal*, 14(2), pp. 243-252. DOI: 10.1017/s1751731119001812
- Pei, Y.-F., Ren, H.-G., Liu, L., Li, X., Fang, C., Huang, Y., Hu, W.-Z., Kong, W.-W., Feng, A.-P., You, X.-Y., Zhao, W., Shen, H., Tian, Q., Zhang, Y.-H., Deng, H.-W. y Zhang, L. (2017). "Genomic variants at 20p11 associated with body fat mass in the European population". *Obesity*, 25(4), pp. 757-764. DOI: 10.1002/oby.21775
- Pryce, J. E., Hayes, B. J., Bolormaa, S. y Goddard, M. E. (2011). "Polymorphic regions affecting human height also control stature in cattle". *Genetics*, 187(3), pp. 981-984. DOI: 10.1534/genetics.110.123943
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I. W., Daly, M. J. y Sham, P. C. (2007). "PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses". *The American Journal of Human Genetics*, 81(3), pp. 559-575. DOI: 10.1086/519795
- Ratai, O., Hermainski, J., Ravichandran, K. y Pongs, O. (2019). "NCS-1 deficiency is associated with obesity and diabetes type 2 in mice". *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 12(1), 78. DOI: 10.3389/fnmol.2019.00078
- Ren, T., Zhang, Z., Fu, R., Yang, Y., Li, W., Liang, J., Mo, G., Luo, W. y Zhang, X. (2020). "A 51 bp indel polymorphism within the PTH1R gene is significantly associated with chicken growth and carcass traits". *Animal Genetics*, 51(4), 568-578. DOI: 10.1111/age.12942
- Roy, S., Leidal, A. M., Ye, J., Ronen, S. M. y Debnath, J. (2017). "Autophagy-dependent shuttling of TBC1D5 controls plasma membrane translocation of GLUT1 and glucose uptake". *Molecular Cell*, 67(1), 84-95. DOI: 10.1016/j.molcel.2017.05.020
- Saatchi, M., Schnabel, R. D., Taylor, J. F. y Garrick, D. J. (2014). "Large-effect pleiotropic or closely linked QTL segregate within and across ten US cattle breeds". *BMC Genomics*, 15(1), 442. DOI: 10.1186/1471-2164-15-442

- Sander, P., Alfalah, M., Keiser, M., Korponay-Szabo, I., Kovács, J. B., Leeb, T. y Naim, H. Y. (2005). "Novel mutations in the human sucrase-isomaltase gene (SI) that cause congenital carbohydrate malabsorption". *Human Mutation*, 27(1), 119. DOI: 10.1002/humu.9392
- Savoia, S., Albera, A., Brugiapaglia, A., Di Stasio, L., Cecchinato, A. y Bittante, G. (2019). "Heritability and genetic correlations of carcass and meat quality traits in Piemontese young bulls". *Meat Science*, 156, pp. 111-117. DOI: 10.1016/j.meatsci.2019.05.024
- Seabury, C. M. et al. (2017). "Genome-wide association study for feed efficiency and growth traits in U.S. beef cattle". *BMC Genomics*, 18(1), 386. DOI: 10.1186/s12864-017-3754-y
- Seong, H.-A., Manoharan, R. y Ha, H. (2018). "Smad proteins differentially regulate obesity-induced glucose and lipid abnormalities and inflammation via class-specific control of AMPK-related kinase MPK38/MELK activity". *Cell Death & Disease*, 9(5), 471. DOI: 10.1038/s41419-018-0489-x
- Setoguchi, K., Watanabe, T., Weikard, R., Albrecht, E., Kühn, C., Kinoshita, A., Sugimoto, Y. y Takasuga, A. (2011). "The SNP c.1326T>G in the non-SMC condensin I complex, subunit G (NCAPG) gene encoding a p.Ile442Met variant is associated with an increase in body frame size at puberty in cattle". *Animal Genetics*, 42(6), pp. 650-655. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2011.02196.x
- Setoguchi, K., Furuta, M., Hirano, T., Nagao, T., Watanabe, T., Sugimoto, Y. y Takasuga, A. (2009). "Cross-breed comparisons identified a critical 591-kb region for bovine carcass weight QTL (CW-2) on chromosome 6 and the Ile-442-Met substitution in NCAPG as a positional candidate". *BMC Genetics*, 10(1), 43. DOI: 10.1186/1471-2156-10-43
- Snelling, W. M., Allan, M. F., Keele, J. W., Kuehn, L. A., McDanel, T., Smith, T. P. L., Sonstegard, T. S., Thallman, R. M. y Bennett, G. L. (2010). "Genome-wide association study of growth in crossbred beef cattle". *Journal of Animal Science*, 88(3), pp. 837-848. DOI: 10.2527/jas.2009-2257
- Svensson, K. J., Long, J. Z., Jedrychowski, M. P., Cohen, P., Lo, J. C., Serag, S., Kir, S., Shinoda, K., Tartaglia, J. A., Rao, R. R., Chédotal, A., Kajimura, S., Gygi, S. P. y Spiegelman, B. M. (2016). "A secreted SLIT2 fragment regulates adipose tissue thermogenesis and metabolic function". *Cell Metabolism*, 2(3), pp. 454-466. DOI: 10.1016/j.cmet.2016.01.008

Then, C. M. (2020). *Estudio de asociación del genoma completo para el crecimiento y características de la canal en la población de ganado de carne Rubia Gallega*. Proyecto Final de Máster. Universitat Politècnica de València.

Valour, D., Degrelle, S. A., Ponter, A. A., Giraud-Delville, C., Champion, E., Guyader-Joly, C., Richard, C., Constant, F., Humblot, P., Ponsart, C., Hue, I. y Grimard, B. (2014). "Energy and lipid metabolism gene expression of D18 embryos in dairy cows is related to dam physiological status". *Physiological Genomics*, 46(2), pp. 39-56. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00091.2013

VanRaden, P. M. (2008). "Efficient methods to compute genomic predictions". *Journal of Dairy Science*, 91(11), pp. 4414–4423. DOI: 10.3168/jds.2007-0980

Wang, Y., Zhang, F., Mukibi, R., Chen, L., Vinsky, M., Plastow, G., Basarab, J., Stothard, P. y Li, C. (2020). "Genetic architecture of quantitative traits in beef cattle revealed by genome wide association studies of imputed whole genome sequence variants: II: carcass merit traits". *BMC Genomics*, 21(1), 38. DOI: 10.1186/s12864-019-6273-1

Wang, H., Misztal, I., Aguilar, I., Legarra, A. y Muir, W. M. (2012). "Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes". *Genetics Research*, 94(2), pp. 73-83. DOI: 10.1017/s0016672312000274

Weikard, R., Altmaier, E., Suhre, K., Weinberger, K. M., Hammon, H. M., Albrecht, E., Setoguchi, K., Takasuga, A. y Kühn, C. (2010). "Metabolomic profiles indicate distinct physiological pathways affected by two loci with major divergent effect on *Bos taurus* growth and lipid deposition". *Physiological Genomics*, 42A(2), pp. 79-88. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00120.2010

Yan, Z., Wang, Z., Zhang, Q., Yue, S., Jiang, Y. y Shi, K. (2019). "Identification of whole-genome significant single nucleotide polymorphisms in candidate genes associated with body conformation traits in Chinese Holstein cattle". *Animal Genetics*, 41(1), pp. 141-142. DOI:10.1111/age.12865

Zhang, Q., Gulbrandsen, B., Thomasen, J. R., Lund, M. S. y Sahana, G. (2016). "Genome-wide association study for longevity with whole-genome sequencing in 3 cattle breeds". *Journal of Dairy Science*, 99(9), pp. 7289-7298. DOI: 10.3168/jds.2015-10697