
Identificación de regiones genómicas asociadas a respuesta a la vacunación contra el PRRS en cerdas reproductoras del sur de Sonora, México

G. Luna-Nevárez^{1*}, C.M. Aguilar-Trejo¹, R.I. Luna-Ramírez¹, R. Zamorano-Algandar¹, X. Zheng², M.E. Enns², S. Speidel², M.G. Thomas² y P. Luna-Nevárez¹

¹ Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias; Instituto Tecnológico de Sonora; C.P. 85000, Ciudad Obregón, Sonora.

² Department of Animal Sciences; Colorado State University; P.C. 80523-1171, Fort Collins, Colorado.

Identification of Genomic Regions Associated to PRRS Vaccination Response in Replacement Gilts from South of Sonora, Mexico

Abstract

The porcine respiratory and reproductive syndrome (PRRS) is a viral disease that seriously affects porcine production in Mexico. The most important method to prevent such disease is the vaccination of replacement sows, whose highly-variable response involves a complex genetic component. Therefore, objective of this research project is to discover genetic basis associated to a physiological-clinical indicator of vaccination response (IVR) against PRRS virus, such indicator is composed by the variables rectal temperature (TR) and daily weight gain (GPD). This study included 100 replacement sows with breed composition $\frac{3}{4}$ Landrace and $\frac{1}{4}$ Yorkshire, about 6-month of age, and vaccinated against PRRS using a modified live virus (day 0). Data from rectal temperature and live weight were collected the days -7, 0, 7, 14, 21, 28 and 35 after vaccination. Blood samples were obtained from each sow at day 40 after vaccination and poured on blood collection cards. The cards were processed for genomic analyses using a low density device which included 10,000 polymorphisms. A Bayesian model for genomic analysis called Bayes C was implemented in the software GenSel to study the genetic variation of the VRI explained by molecular markers previously associated to VRI. The genomic analysis detected 13 genic windows within chromosomes 3, 4, 5, 9, 12, 15, 16 and 17, which explain about 32% of the total genomic variation associated to IVR. In conclusion, there exist genetic components associated to IVRI, and this assumption is supported by the genomic analyses that suggests the IVR is gene-influenced. Therefore, this study could be proposed as an important strategy for genetic selection to identify sows with favorable response after vaccination against the PRRS virus.

Key words: replacement sows, genome, PRRS, genetic variation.

Resumen

El síndrome respiratorio reproductivo porcino (PRRS) es una enfermedad de origen viral que afecta seriamente la producción porcina en México. El principal método para prevenir dicha enfermedad es la vacunación de las hembras de reemplazo, cuya respuesta altamente variable tiene un complejo componente genético. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue descubrir bases genéticas asociadas a un indicador fisiológico-clínico de respuesta a la vacunación (IRV) contra el virus del PRRS; dicho indicador está compuesto por los caracteres de ganancia de peso diaria (GPD) y temperatura rectal (TR). El estudio incluyó 100 marranas de reemplazo de raza $\frac{3}{4}$ Landrace y $\frac{1}{4}$ Yorkshire, con edad de 6 meses y vacunadas con el virus vivo modificado del PRRS (día 0). Se recolectaron datos de temperatura rectal y peso vivo de todas

*Autores de correspondencia

Email: g_luna_n@yahoo.com.mx

las hembras los días -7, 0, 7, 14, 21, 28 y 35 posteriores a la vacunación. Muestras de sangre fueron obtenidas de cada hembra el día 40 posterior a la vacunación y depositadas en tarjetas de recolección "Blood Cards". Las tarjetas fueron procesadas para análisis genómico utilizando un dispositivo de baja densidad de 10,000 polimorfismos. Un modelo bayesiano de análisis genómico Bayes C fue implementado en el software Gensel para estudiar la variación genética del IRV que es explicada por los marcadores moleculares que resultaron previamente asociados a dicho indicador. El análisis genómico detectó 13 ventanas génicas dentro de los cromosomas 3, 4, 5, 9, 19, 12, 15, 16 y 17, que explican cerca del 32% del total de la variación genómica asociada al IRV. Se concluye que existen componentes genético asociado al IRV, ya que el análisis el genómico arrojó resultados que sugieren en forma confiable que el IRV está regulado por genes. Por lo tanto, el presente estudio puede ser propuesto como una potencial estrategia de selección genética de cerdas con respuesta favorable a la vacunación contra el virus del PRRS.

Palabras claves: cerdas de reemplazo, genoma, virus del PRRS, variación genética.

Introducción

El síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS) es la más significativa enfermedad que afecta comercialmente a la producción porcina en Norteamérica, Europa y Asia (Rowland *et al.*, 2012). El cerdo (*Sus scrofa*), tanto doméstico como silvestre, es la única especie conocida que resulta naturalmente susceptible al PRRS (AHA, 2004). El PRRS causa problemas reproductivos en animales en crianza, y problemas respiratorios y reducción del desarrollo en animales en crecimiento (Boddicker *et al.*, 2012). El fallo reproductivo se caracteriza por infertilidad, momificación fetal, abortos, agalactia y el nacimiento de lechones muertos, o tan débiles que mueren poco después de nacer, debido a trastornos respiratorios e infecciones secundarias como *Salmonella choleraesuis*, *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis*, *Mycoplasma hyopneumoniae* y virus de la influenza porcina (Hill, 1996). En cerdos en crecimiento el virus del PRRS causa una neumonía intersticial (Collins *et al.*, 1992). El virus del PRRS (PRRSV), pertenece al orden Nidovirales, familia Arteriviridae, género Arterivirus (Zimmerman *et al.*, 2006). El período de incubación oscila entre 4 y 8 días experimentalmente, pero en focos naturales puede durar entre 3 y 37 días (AHA, 2004). Las medidas utilizadas actualmente para controlar el PRRS incluyen despoblación, repoblación y eliminación del hato, bioseguridad, prueba y remoción, y vacunación (Corzo *et al.*, 2010). La estrategia de vacunación es la menos costosa para los porcicultores y es accesible para todos los tamaños de productores (ej. pequeños, medianos y grandes), comparada con otras estrategias de control

del PRRS. Hay dos tipos de vacunas disponibles comercialmente, una es una vacuna con virus vivo-modificado (VVM) y la otra es una vacuna con virus muerto (VM). (Charemtantankul *et al.*, 2010).

Por otro lado, estudios asociativos de genoma completo relacionados con el PRRS en cerdos se han elaborado con anterioridad. Bodicker *et al.* (2012) realizaron un estudio asociativo de genoma completo (GWAS) utilizando los caracteres de carga viral y ganancia de peso en cerdos expuestos al PRRSV. Los genotipos obtenidos usando un dispositivo de perfil genómico (chip) de ~60,000 SNPs identificaron regiones genómicas asociadas con carga viral en los cromosomas 4 y X, y con ganancia de peso en los cromosomas 1, 4, 7, y 17. Por otra parte, Serão *et al.* (2014) realizaron estudio asociativo en cerdos expuestos a la vacuna del PRRS utilizando los caracteres de ganancia de peso y presencia de anticuerpos; ellos reportaron 61,565 SNPs útiles e identificaron regiones genómicas asociadas a ganancia de peso en el cromosoma 4, y para presencia de anticuerpos en los cromosomas 2, 6, 7, 13, 10 y 18. Hasta el momento, no se ha identificado un estudio considerando sólo los caracteres de temperatura rectal y ganancia de peso asociados con respuesta favorable a la vacuna del PRRS, en el proceso de aclimatación. Adicionalmente Serão *et al.* (2016) reportaron la validación de genes asociados a la resistencia a la enfermedad del PRRS, durante el proceso de aclimatación de cerdas de reemplazo expuestas a la vacuna del PRRSV.

Debido a la relevancia que tiene la vacuna del PRRS como medio para reducir la pérdidas económicas relacionadas con los signos clínicos de la enfermedad (Charentantanakul *et al.*, 2010), el objetivo del presente estudio es conocer las bases genéticas que propician una reacción favorable a la vacuna del PRRS utilizando un indicador compuesto por dos caracteres de comportamiento: temperatura corporal y ganancia de peso, en marranas expuestas a la vacuna, aplicando una herramienta estadístico-Bayesiana para conducir un estudio asociativo de genoma-completo (GWAS). Los resultados del estudio son parte de una primera etapa para descubrir las bases genéticas de respuesta de resistencia al virus del PRRS (PRRSV). La identificación de genes asociados con el indicador compuesto de respuesta a la vacuna IRV será útil para implementar posteriormente estudios a nivel molecular.

Materiales y métodos

Población

Se eligieron inicialmente 100 individuos de una granja porcina comercial ubicada en el Valle del Yaqui, al sur del estado de Sonora (LN: 27°17', LO: 109°56', altitud 50 msnm). Los individuos fueron cerdas primerizas en desarrollo con propósito final de producción, con 6 meses de edad y que nacieron el mismo día: 02/11/2012. Su composición racial fue $\frac{1}{4}$ York + $\frac{3}{4}$ Landrace, con un peso inicial de 108.23 ± 10.9 kg. Todas las hembras fueron seleccionadas en forma aleatoria, y no presentaban infección al virus del PRRS al inicio del estudio, momento desde el cual fueron alojadas en corrales dentro de un área de cuarentena. Después de un período de adaptación de 7 días, se aplicó la vacuna comercial por vía intra-muscular con la dosis mínima inmunizante propuesta por el fabricante contra el virus del PRRS (virus activo modificado cepa ATCC-VR-2332 del PRRS DICT50 propagado en cultivos celulares, Ingelvac PRRS MLV del laboratorio Boehringer Ingelheim) dando inicio al experimento, por lo que el día de la vacunación se consideró como el día 0. Durante el desarrollo del proyecto fue necesario prescindir de 25 animales, debido a que fueron sujetos a otras pruebas experimentales, siendo 75 cerdas el universo final para estudio.

Fenotipos

Siete días antes de la vacunación contra la enfermedad del PRRS, se extrajo una muestra de sangre de cada hembra, las cuales fueron transportadas al Laboratorio de Diagnóstico Integral de Patología Animal (DIPA), México. Con las muestras de ARN identificadas se realizó el análisis de PCR en tiempo real para PRRS utilizando un kit comercial (Tetracore Nextgen Real-Time QT-PCR Target Specific reagents for the detection & differentiation of North American & European PRRSV Viral ARN), que reconoce un segmento del ORF 7, reportándose como número de copias de ARN del virus PRRS por mililitro de muestra (con el equipo: Cepheid Smart Cycler Version 2.0d.). Esta prueba se realizó para garantizar que todas las hembras a estudiar presentaran un diagnóstico negativo a la presencia del virus del PRRS.

Las hembras fueron pesadas semanalmente utilizando una báscula ganadera de corral para pequeñas y medianas especies, para calcular la ganancia de peso diaria (GDP; kg). Antes de pasar a la báscula se les tomó la temperatura rectal (TR; oC) utilizando un termómetro GLA M750 digital (GLA Electrónica agrícolas). Las mediciones de ambas variables se recolectaron los días: -7, 0, 7, 14, 21, 28 y 35, con respecto al día de la aplicación de la vacuna contra el PRRS. Los estadísticos descriptivos de las mediciones de se muestran en la tabla 1.

Todas las hembras fueron categorizadas de acuerdo a las mediciones promedio durante el estudio de GDP y TR, como parte de la preparación de la información para los análisis estadístico-moleculares.

Para GDP (donde el promedio es igual a 0.467 kg):

- 1=Debajo del promedio,
- 2=Por arriba del promedio.

Para TR:

- 1=Debajo de 39oC, y
- 2=Arriba de 39oC.

Basándose en las categorías antes descritas se generó el indicador compuesto, el cual incorporó los dos caracteres fisiológicos y al cual se le denominó indicador de respuesta a la vacuna (IRV). Se eligieron estos dos fenotipos debido a que el carácter de ganancia de peso ha sido previamente reportado como asociado a la respuesta a la

Tabla 1. Detalle de estadísticos descriptivos para los caracteres (fenotipos).

Día	n	Min	Media	Max	SD
Ps -7 (kg)	75	85.00	108.30	131.40	11.00
Ps 0 (kg)	75	82.00	109.00	136.00	11.97
Ps 7 (kg)	75	89.00	113.40	137.60	11.54
Ps 14 (kg)	75	93.00	116.60	140.60	11.21
Ps 21 (kg)	75	96.70	121.10	147.20	11.41
Ps 28 (kg)	75	102.20	125.90	155.40	12.33
Ps 35 (kg)	75	100.60	125.30	151.20	12.39
Ps Promedio (kg)	75	93.73	117.09	141.71	10.78
GDP 0 (kg)	75	-3.171	0.875	2.771	0.875
GDP 7 (kg)	75	-2.800	0.733	4.067	1.123
GDP 14 (kg)	75	-1.770	0.461	2.543	0.806
GDP 21 (kg)	75	-1.200	0.634	1.714	0.506
GDP 28 (kg)	75	-1.425	0.602	1.725	0.462
GDP 35 (kg)	75	-1.700	-0.097	1.500	0.621
GDP Promedio (kg)	75	-0.246	0.467	1.247	0.293
TR -7 (°C)	75	38.85	39.63	41.00	0.47
TR 0 (°C)	75	35.29	39.09	42.38	0.67
TR 7 (°C)	75	38.40	39.04	40.04	0.34
TR 14 (°C)	75	31.76	38.62	40.75	1.26
TR 21 (°C)	75	38.16	38.91	40.53	0.33
TR 28 (°C)	75	36.74	39.08	39.95	0.38
TR 35 (°C)	75	38.44	38.89	39.86	0.29
TR Promedio (°C)	75	37.71	38.90	39.62	0.32

Cálculos estadísticos descriptivos (mínima, media, máxima y desviación estándar) para los caracteres de temperatura rectal (TR en °C) y ganancia de peso diaria (GDP en kg) para los días de recolección de datos (-7, 7, 14, 21, 28, 35), así como el promedio del periodo de recolección. GDP fue calculada con el carácter de peso (Ps en kg).

vacunación contra el virus del PRRS (Serão, 2014), así como en estudios asociativos con enfoque productivo (Fontanesi, 2014; Onteru, 2013; Do, 2015), mientras que el carácter de temperatura rectal ha sido medido, evaluado y analizado como un signo clínico en estudios con inoculación del PRRSV (Ladinig, 2014; Bonckaert, 2016; Han, 2011).

El IRV permitió clasificar a las hembras de la siguiente forma:

A=Respuesta Altamente Favorable (si GDP=2, TR=1),
M=Respuesta Medianamente Favorable (si GDP=2,

TR=2),
P=Respuesta Pobremente Favorable (si GDP=1, TR=2).

Después de la aplicación de criterios en las 75 cerdas de reemplazo para obtener el IRV, la distribución de individuos en cada sub-universo fue:

28 se identificaron como “Pobremente Favorables”, 18 como “Medianamente Favorables” y, 29 como “Altamente Favorables”.

Genotipos

El día 40 posterior a la vacunación, de cada una de las 75 hembras se extrajo de la parte trasera-inferior

de la oreja 3 ml de sangre, mediante punción con jeringa comercial estéril, la cual fue depositada en tarjetas recolectoras con filtro separador de componentes sanguíneos “blood cards”. Las tarjetas fueron transportadas al Laboratorio de Biotecnología de Reproducción del ITSON y almacenadas en cajas especiales a temperatura ambiente (32 oC) durante una semana. Posteriormente, las tarjetas fueron enviadas al Laboratorio Neogen/GeneSeek Inc. (Nebraska USA), donde se procesaron para la extracción y cuantificación del ADN. Para identificar los genotipos se utilizó un dispositivo de perfil genómico de baja densidad (GeneSeek Genomic Profiler for Porcine Low Density BeadChip, versión GSGT 1.9.4) con aproximadamente 10,000 polimorfismos de nucleótido simple (SNPs), de acuerdo al protocolo definido por el proveedor. Este chip, o circuito integrado en una pequeña tableta, es comúnmente utilizado por la USDA (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos) por que contiene SNPs que permiten identificar marcadores de crianza que están asociados con un desarrollo estructural robusto y sano del animal. Algunos de los principales marcadores incluidos son: Gen del síndrome de estrés porcino, gen de rendimiento Napole, gen de resistencia a E. coli (F4 ab/ac), y el gen de resistencia o tolerancia al virus del PRRS (WUR10000125).

En la tabla 2 se presentan los estadísticos descriptivos sobre la ubicación de los SNPs identificados en el análisis genómico.

Control de Calidad

Para el análisis de calidad y depuración de los genotipos se utilizó el software PLINK v1.07 (Purcell et al., 2007).

Los criterios de control de calidad implementados con PLINK y que fueron aplicados a los datos de cada SNP de la población fueron:

Los animales que presentaron una frecuencia (call rate) >0.9 y porcentaje de error Mendeliano <0.05, sólo los SNPs con frecuencia >0.9, frecuencia

menor de alelo (MAF) > 0.03, valores de P > 10⁻⁶ para la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg y porcentaje de error Mendeliano < 0.1, fueron incluidos en el estudio (Yang et al., 2013).

Un total de 8,826 SNPs útiles resultaron después de aplicar el procedimiento de calidad, para ser incluidos en el análisis asociativo, en los 75 individuos.

Estudio Asociativo de Genoma Completo (GWAS) La asociación de los genotipos de cada SNP con el fenotipo IRV fue analizada considerando todos los SNP en forma simultánea usando el método bayesiano para selección genómica llamado Bayes C (Habier et al., 2011), el cual se implementó con el software GenSel versión 3.04 (Fernando y Garrick et al., 2009). Se obtuvo la variación genética explicada por cada SNP en cada ventana genómica de un mega base (1 Mb). La ecuación del modelo estadístico usado fue:

$$y = Xb + \sum z_i \alpha_i \delta_i + e; \text{ la sumatoria es, de } i \text{ hasta } n \text{ número de SNP.}$$

donde:

y = vector de fenotipos (respuesta a la vacuna del PRRS, IRV);

X = matriz de incidencias relacionadas con los efectos fijos de los fenotipos;

b = vector de efectos fijos;

z = vector de covariables del genotipo del SNP (-10/0/10), basado en el número de alelos B usando la nomenclatura del proveedor del Chip (GeneSeek);

α = efecto aleatorio de la sustitución alélica para cada SNP ;

δ = indicador de inclusión/exclusión del SNP (inclusión=1, exclusión=0);

e = vector de efectos aleatorios del error residual.

Cuando el valor aleatorio de la variable independiente δ indicó ausencia (exclusión) del SNP se consideró probabilidad π , y cuando indicó presencia (inclusión) se consideró probabilidad 1- π . El efecto residual e se asumió que está normalmente distribuido, es decir N(0, σ^2e). El método Bayes C

Tabla 2. Estadísticos Descriptivos de Distancias entre SNPs

Concepto	No. SNPs	Min	Mean	Max	SD
Distancia (bp)	8,826	45	342,842	2,749,313	269,757

Estadísticos descriptivos (tamaño de la muestra, valor mínimo, valor máximo, media y desviación estándar) sobre las distancias entre los marcadores identificados, obtenidos de las muestras de sangre enviadas para análisis genómico del ADN. La unidad de medición de la distancia es bp (pares de bases).

asume que el efecto aleatorio de la sustitución alélica de los SNPs (α) es diferente de cero (con $\delta=1$ y probabilidad $1-\pi$), y la varianza es la misma para el análisis conjunto de todos los SNPs. Las distribuciones previas para las varianzas ($\sigma^2\alpha$ y σ^2e) fueron asumidas bajo una distribución de probabilidad χ^2 (ji-cuadrada) inversa con 4 o 10 grados de libertad. La probabilidad previa de que $\delta_i = 0$ se consideró como igual 0.98, es decir $\pi = 0.98$, buscando identificar alta variación. Un total de 40,000 iteraciones de Cadena de Markov fueron consideradas para el análisis, con 1,000 iteraciones como máximo para cada eslabón para obtener la media posterior del efecto de cada SNP. La varianza genética fue registrada cada 100 iteraciones (frecuencia de salida a los resultados) para cada fragmento de 1 Mb de genoma y expresado como un porcentaje del total de la varianza explicada en el genoma completa en esa iteración (Zeng *et al.*, 2014).

Ubicación de Genes Candidatos

La versión de genoma porcino 10.2 (Pig Sscrofa 10.2) fue utilizada para caracterizar a los genes en la página web “e!Ensembl”. La página fue consultada con el navegador de páginas web Firefox versión 40.0.3 (http://useast.ensembl.org/Sus_scrofa/Info/Index).

Resultados

Control de Calidad

Se presentan dos cuadros de resúmenes (Tablas 3 y 4) sobre los resultados del proceso de control de calidad, y corresponden a los animales en los que

existieron genotipos, y cuáles genotipos se identificaron.

Estudio Genómico

Los resultados del GWAS para IRV usando Bayes C se muestran en la figura 1. Se identificaron 13 ventanas genómicas con distancia de 1 Mb con alta representación que explican un 32% de variación genómica para el IRV. Los 13 locus de caracteres cuantitativos (QTL) fueron seleccionados por el criterio de mayor variación genómica por ventana, para cada cromosoma, y se eligieron los SNPs más representativos para los cuales la suma conjunta de su variación genómica supera el 1%. Un resumen sobre los QTLs se muestra en la tabla 5.

El genoma del cerdo mide aproximadamente 143 432 695 Mb, por lo que incluye 16,251 ventanas de 1 Mb no sobrepuestas basándonos en 8,826 marcadores genotificados (Oteru *et al.*, 2013).

La ventana 1618 del cromosoma 12 (SSC12, o Sus Scrofa Chromosome 12 por sus siglas en inglés; acrónimo para mencionar un cromosoma del genoma del cerdo), con una distancia de 2 Mb, e integrada por 8 polimorfismos, fue la que presentó mayor variación genómica. El QTL correspondiente a la ventana 1618 inicia en la posición 2 097 504 terminando en la posición 2 979 580 del genoma porcino. La ventana 499 del cromosoma 3 (SSC3) con una distancia de 30 Mb, conformada por 3 SNPs fue la que presentó la menor variación genómica del grupo presentado.

Los tres SNPs con mayor variación genómica en el análisis fueron: ASGA0088990 con 7.70% de variación, en la ventana 1618, en SSC12, en la posición 2,979,580 Mb del genoma;

Tabla 3. Estadísticos Descriptivos de las Muestras Genotificadas

Concepto	n	Min	Mean	Max	SD
Call rate	75	0.939	0.983	0.988	0.006
Het rate	75	0.343	0.4	0.436	0.016

Estadísticos descriptivos sobre el porcentaje de existencia del grupo de marcadores del Chip, en la muestra. El concepto “Call rate” es el indicador de existencia, y “Het rate” es indicador de inexistencia.

Tabla 4. Estadísticos Descriptivos para los Marcadores Moleculares

Concepto	n	Min	Mean	Max	SD
Call rate	8,826	0	0.983	1	0.101
MAF	8,520	0.006	0.306	0.5	0.133

Presentación de cálculos de estadísticos descriptivos para porcentaje de existencia del total de los 10,000 SNPs en el ADN de los individuos. El concepto “Call rate” es el indicador de existencia, y “MAF” es la frecuencia del alelo menor.

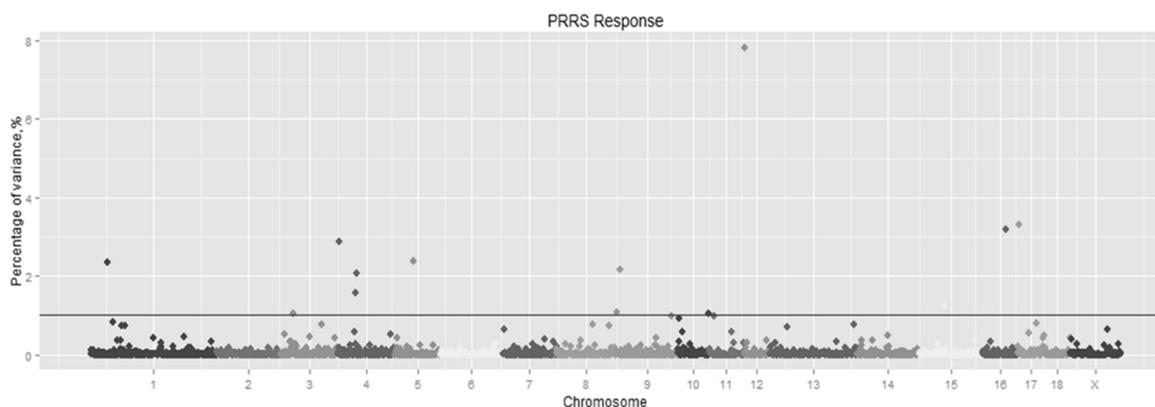


Figura 1. Gráfico “Manhattan Plot” que presenta en ventanas con distancia de 1 Mb la ubicación de los polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) para cada cromosoma, por porcentaje de variación genómica. La variación fue calculada en base a su grado de asociación con el indicador de respuesta a la vacuna (IRV) mediante el modelo estadístico-matemático Bayes C del software GenSel.

Tabla 5. Resultados del Análisis Genómico

Ventana	SNP Inicial	SNP Final	#SNPs	% Var	Pos. Inicial	Pos. Final	Cromosoma	Mb
1618	ASGA0052479	ASGA0088990	8	7.82	2,097,504	2,979,580	12	2
2295	ALGA0092682	ASGA0100169	6	3.30	3,153,062	3,751,012	17	3
2264	ALGA0090848	H3GA0046792	4	3.18	59,182,785	59,930,060	16	59
614	ALGA0022165	M1GA0005374	5	2.87	3,078,372	3,961,749	4	3
799	ALGA0031834	ALGA0031841	3	2.37	47,148,878	47,782,626	5	47
42	DRGA0000604	DRGA0000615	4	2.34	42,106,831	42,826,453	1	42
1308	ASGA0102944	ALGA0051011	2	2.15	8,381,215	8,780,883	9	8
656	MARC0036045	ASGA0019569	3	2.06	45,255,747	45,908,536	4	45
655	SIRI0000030	ASGA0019551	4	1.56	44,003,320	44,916,881	4	44
2111	ALGA0085492	ASGA0069687	3	1.24	62,062,684	62,506,865	15	62
1300	ASGA0091563	M1GA0026290	9	1.08	70,220	974,310	9	0
1527	ASGA0094517	ASGA0090294	5	1.04	77,141,165	77,708,236	10	77
499	ASGA0014064	H3GA0009179	3	1.03	30,120,718	30,781,487	3	30
Total SNPs			59					

Resumen sobre los resultados del análisis genómico. Se presentan los SNPs con su correspondiente variación genómica, agrupados en ventanas dentro de un mismo cromosoma, indicando el SNP Inicial y Final del grupo. Adicionalmente se muestra la ubicación de inicio de los SNPs en el genoma del cerdo, así como como la distancia ocupada conjuntamente (Mb).

ALGA0092677 con 3.27% de variación, en la ventana 2295, en SSC17, en la posición 3,264,239 Mb; y ASGA0073565 con 3.16% de variación, en la ventana 2264, en SSC16 ubicado en la posición 59,713,601 Mb.

Discusión

Estudio Genómico

En el estudio GWAS realizado por Serão *et al.* (2014) en donde se analizaron los caracteres ganancia de peso diaria (ADG) y respuesta de anticuerpos (indicador S/P-Acc.) en individuos

vacunados contra el PRRSV, para el carácter de ganancia de peso diaria se identificó una región en las posiciones 77-81 Mb del SSC4, explicando un 1.8 % del total de la varianza genética, y para respuesta de anticuerpos en el proceso de aclimatación se identificaron las regiones: 27-30 Mb del SSC7, y 82-83 Mb del SSC13, explicando 1.3% y 1.2% de total de la varianza genética, respectivamente. En el estudio GWAS para identificar bases genéticas de resistencia a la enfermedad del PRRS (Boddicker *et al.*, 2012), donde se analizaron los caracteres de ganancia de peso (WG) y carga viral (VL), para ganancia de peso se identificaron regiones genómicas en las posiciones 139-140 Mb del SSC4 y 45 Mb del SSCX explicando el 15.7% y 1.8% de varianza genética, y para carga viral en las posiciones: 123-124 Mb del SSC1, 139-140 Mb del SSC4, 24 Mb del SSC7, y 32-33 Mb del SSC8, explicando del total de varianza genética 2.1%, 11.2%, 2.6% y 1.0%, respectivamente.

Realizando un comparativo entre las regiones genómicas del presente estudio y las mencionadas anteriormente, para el carácter de ganancia de peso Serão *et al.* (2014) encontraron en el SSC4 una variación genómica de 1.8%, Boddicker *et al.* (2012) obtuvieron 15.7% y el análisis realizado en el presente estudio sobre IRV (GPD y TR) arrojó 7.08%. Las posiciones de las regiones de los cromosomas comparados no son coincidentes. El resto de los caracteres no son comparables (S/P-Acc. y VL).

El resultado total de variación genómica identificada para el IRV de 32%, en regiones no consecutivas, se puede considerar bueno, más no excelente, ya que los resultados más altos de los otros autores fueron de 17.5% (Boddicker *et al.* 2012) y 60.1% (Serão *et al.* 2014).

El marcador molecular WUR10000125, el cual fue identificado por Boddicker *et al.* (2012) como gen con alto potencial para resistencia a la enfermedad del PRRSV, en el presente estudio no se encontró asociado genéticamente de manera significativa con el IRV, aun cuando este SNP se presentó en el 100% de los individuos.

Conclusiones

La identificación de 59 marcadores moleculares incluidos en las 13 ventanas genómicas en los animales expuestos a la vacuna en contra del

PRRSV, explica cerca de 32% de la variación genómica del indicador compuesto IRV. Estos resultados genómicos sugieren que durante el proceso de aclimatación a la vacunación del PRRSV se favorece la ganancia de peso diaria (GDP) y el control de temperatura corporal (TR); por lo que el estudio puede ser utilizado como estrategia complementaria de selección genética de hembras porcinas con respuesta favorable a la vacunación en contra del virus del PRRS.

En el estudio se ejemplificó el potencial de un análisis extensivo del genoma para identificar las bases que propician superioridad genética en caracteres de impacto económico como: respuesta favorable a la vacuna de enfermedades (nuestro caso), resistencia a enfermedades, adaptación a condiciones climáticas adversas, o alto desempeño reproductivo o productivo. Se sugiere dar continuidad a investigaciones a nivel molecular para las regiones genómicas encontradas.

Agradecimientos

Al laboratorio DIPA-ITSON por su apoyo en la realización de las pruebas de laboratorio y a la Unión Ganadera Regional de Porcicultores de Sonora por el financiamiento de los análisis de genoma completo.

Bibliografía

- Animal Health Australia (AHA). (2004). Disease strategy: Porcine reproductive and respiratory syndrome (Version 3.0). Australian Veterinary Emergency Plan (AUSVETPLAN), Edition 3, Primary Industries Ministerial Council, Canberra, ACT. 2004.
- Boddicker N., Waide E. H., Rowland R. R. R., Lunney J. K., Garrick D. J., Reedy J. M. and Dekkers J. C. M. (2012). "Evidence for a major QTL associated with host response to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus challenge". *J. Anim. Sci.* 90:1733-1746. 2012.
- Bonckaert C., Van der Meulen K., Rodríguez-Ballarà I., Pedrazuela R., Fenech M. and Nauwynck H.J. (2016). "Modified-live PRRSV subtype 1 vaccine UNISTRAIN@ PRRS provides a partial clinical and virological protection upon challenge with East European subtype 3 PRRSV strain Lena". *Porcine Health Management* 2:12. 2016. Doi 10.1186/s40813-016-0029-y. 2016.
- Charemtantanakul, W. (2012). "Porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccines: Immunogenicity, efficacy and safety aspects". *World Journal of Virology*, 1(1), 23-30. <http://doi.org/10.5501/wjv.v1.i1.23>. 2012.
- Collins J. E., Benfield D. A., Christianson W. T., Harris L., Hennings J. C., Shaw D. P., Goyal S. M., McCullough S., Morrison R. B., Joo H. S., Gorceya D., and Chladek D. (1992). "Isolation of swine infertility and respiratory

- syndrome virus (isolate ATCC VR-2332) in North America and experimental reproduction of the disease in gnotobiotic pigs". *J. Vet. Diagn. Invest.* 4:117–126. 1992.
- Corzo C.A., Mondaca E., Wayne S., Torremorell M., Dee S., Davies P., Morrison R.B. (2010). "Control and elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus". *Virus Res.* 2010;154:185–192. 2010.
- Do D.N., Janss L.L., Jensen J., Kadarmideen H.N. "SNP annotation-based whole genomic prediction and selection: an application to feed efficiency and its component traits in pigs". *J Anim Sci.* 2015;93:2056–63.
- Fernando R. and Garrick D. (2009). "User manual for a portfolio of genomic selection related analysis". Second Edition. Iowa State University. 2009.
- Fontanesi L., Schiavo G., Galimberti G., Calo D.G., Russo V. "A genomewide association study for average daily gain in Italian Large White pigs". *Journal of animal science.* 2014;92(4):1385–94. doi: 10.2527/jas.2013-7059
- Habier D., Fernando R. L., Kizilkaya K., Garrick D. J. (2011). "Extension of the Bayesian Alphabet for Genomic Selection". *BMC Bioinformatics* 12:186. 2011.
- Han K., Seo H. W., Shin J. H., Oh Y., Kang I., Park C., & Chae C. (2011). "Effect of the Modified Live Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) Vaccine on European and North American PRRSV Shedding in Semen from Infected Boars". *Clinical and Vaccine Immunology: CVI*, 18(10), 1600–1607. <http://doi.org/10.1128/CVI.05213-11>. 2011.
- Hill H. (1996). "PRRS: Practical strategies for prevention and management of a positive herd". Proceedings of the 1996 North Carolina Pork Producers Conference, pp. 1-7, January 9-10, Fayetteville, North Carolina. 1996.
- Ladinig A., Wilkinson J., Ashley C., Detmer S. E., Lunney J. K., Plastow G., & Harding J. C. S. (2014). "Variation in Fetal Outcome, Viral Load and ORF5 Sequence Mutations in a Large Scale Study of Phenotypic Responses to Late Gestation Exposure to Type 2 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus". *PLoS ONE*, 9(4), e96104. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0096104>. 2014.
- Onteru S.K., Gobach D.M., Young J.M., Garrick D.J., Dekkers J.C.M. (2013). "Whole Genome Association Studies of Residual Feed Intake and Related Traits in the Pig". *PLoS ONE* 8(6):e61756. Doi:10.1371/journal.pone.0061756. 2013.
- Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M.A. (2007). "PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses". *Am J Hum Genet* 81: 559–575. doi: 10.1086/519795. 2007.
- Rowland RRR, Lunney J, Dekkers J. (2012). "Control of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) through genetic improvements in disease resistance and tolerance". *Frontiers in Genetics.* 2012;3:260. doi:10.3389/fgene.2012.00260. 2012.
- Serão N.V.L., Kemp R.A., Mote B.E., Harding J.C.S., Willson P., Bishop S.C., Plastow G.S. and Dekkers J.C.M. (2014). "Whole-genome scan and validation of regions previously associated with PRRS antibody response and growth rate using gilts under health challenge in commercial settings". Paper presented at 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production, Vancouver, BC, Canada (2014, August 17–22).
- Serão NVL, Kemp R.A., Mote B.E., Willson P., Harding J.C.S., Bishop S.C., Plastow G., Dekkers J.C.M. (2016) "Genetic and genomic basis of antibody response to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in gilts and sows". *Genet Sel Evol.*;48:51. 2016.
- Yang, B., Zhang, W., Zhang, Z., Fan, Y., Xie, X., Ai, H., ... Ren, J. (2013). "Genome-Wide Association Analyses for Fatty Acid Composition in Porcine Muscle and Abdominal Fat Tissues". *PLoS ONE*, 8(6), e65554. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0065554>. 2013.
- Zeng X., Cockrum R. R., Berge R. R., Neary J. M., Garry F. B., Holt T., Blackburn H. D., Speidel S. E., Garrick D. J., Enns R. M., Thomas M. G. (2014). "Genetic Correlation and Genome Wide Association Study of Pulmonary Arterial Pressure and Post Weaning Growth Traits in Angus Heifers from a High Altitude Breeding Program". Paper presented at 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production, Vancouver, BC, Canada (2014, August 17–22).
- Zimmerman J., Benfield D., Murtaugh M., Osorio F., Stevenson G. y Torremorell M. (2006). "Porcine reproductive and respiratory syndrome virus". En Straw, B.E., D'Allaire, S., Zimmerman, J., Taylor, DJ (eds). *Diseases of Swine*, 9.^a edición, Blackwell Publishing Company, Ames, Iowa (USA). 2006.