

VALIDACIÓN DE LOS EFECTOS DEL SNP ACACA: c.5634T>C SOBRE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN CERDOS IBÉRICOS PUROS Y CRUZADOS CON DUROC

Muñoz, M., Rodríguez, M.C., Fernández, A., Barragán, C., Alves., E. y Silió, L.
INIA, Departamento de Mejora Genética Animal, 28040 Madrid.
mariamm@inia.es

INTRODUCCIÓN

La composición de ácidos grasos de las grasas subcutánea e intramuscular tiene un impacto directo en la calidad de la carne de porcino. Cambios en los porcentajes de ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA) influyen en características tecnológicas como la firmeza, y organolépticas, como el sabor y el olor (Russo y Nani Costa 1995; Ruiz et al., 1999). Asimismo la composición de ácidos grasos afecta a la salud humana, ya que dietas ricas en ácidos grasos saturados incrementan el colesterol en plasma y por tanto incrementan, entre otros el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Lichtenstein, 2006).

En un trabajo previo, realizado en la generación F2 de un cruce Ibérico x Landrace (IBMAP), se detectó un QTL, en el cromosoma SSC12, con efecto sobre los ácidos grasos palmitoleico (C16:1 (n-9)), esteárico (C18:0) y vaccénico (C18:1 (n-7)). Asimismo el gen Acetyl Coenzima-A Carboxilasa α (ACACA) fue testado como gen candidato posicional y funcional, detectándose una asociación muy significativa entre el SNP sinónimo ACACA: c.5634T>C y los ácidos grasos afectados por el QTL (Muñoz et al., 2007). En otro estudio realizado en individuos de las generaciones F3, retrocruce ♂F2 x ♀Landrace y retrocruce ♂F1 x ♀Landrace del IBMAP, se detectó un QTL en el mismo cromosoma con efecto sobre los ácidos grasos mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) medidos en grasa intramuscular. En este caso no se detectó ningún efecto significativo del SNP ACACA: c.5634T>C sobre el porcentaje de ácidos grasos (Muñoz et al., 2010).

Los resultados positivos del análisis de asociación del primer estudio indican que el polimorfismo ACACA: c.5634T>C podría estar en fuerte desequilibrio de ligamiento con la mutación causal. En el presente trabajo se ha llevado a cabo un estudio de asociación de este polimorfismo con el contenido de ácidos grasos en grasa subcutánea e intramuscular en cerdos pesados de dos tipos genéticos (Ibéricos y Duroc x Ibérico) para confirmar los efectos descritos en cerdos de diferentes características genéticas y productivas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron dos ensayos con animales nacidos en una granja privada de cerdos ibéricos, que tras su destete se trasladaron al Centro de Pruebas de Porcino del ITACyL (Hontalbilla, Segovia) hasta su sacrificio en un matadero comercial. Mediante cromatografía de gases, se determinó el perfil de ácidos grasos en grasa intramuscular de muestras de *Longissimus dorsi* y en muestras de grasa subcutánea de la región caudal. Se calcularon los porcentajes de ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA).

En el ensayo 1 se dispuso de registros y genotipos de 170 cerdos Ibéricos sacrificados en cuatro lotes, aunque en el caso de los registros medidos en grasa intramuscular sólo se dispuso de información medida en 108 animales Ibéricos. Los animales fueron genotipados para seis SNPs detectados en el gen ACACA mediante la plataforma de genotipado descrita en Rodríguez et al. (2010). Cuatro de los SNPs son exónicos y silentes (c.5634T>C; exón 46, c.5715T>C; exón 47, c.6225A>G; exón 51, c.6639A>C; exón 54), y los otros dos, están localizados en intrones (ALGA0066299T>C y g.53840T>C). Para el análisis de asociación se utilizó un modelo animal que, además del efecto poligénico aleatorio, incluía como efectos sistemáticos el lote de sacrificio, los efectos aditivo y dominante del SNP y el peso de la canal. La significación estadística de los efectos del SNP se calculó comparando los modelos completo y reducido mediante la aproximación χ^2 al cociente de verosimilitudes (LR). En el ensayo 2 se dispuso de un total de 117 cerdos Duroc x Ibérico sacrificados en un solo lote,

que fueron genotipados únicamente para el SNP ACACA: c.5634T>C mediante PCR-RFLP, siguiendo el protocolo descrito en Muñoz *et al.* (2007). En el análisis de asociación se utilizó un modelo animal estándar con los efectos sistemáticos, sexo, efectos aditivo y dominante del SNP y como covariable el peso de la canal. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa QxPak v4.0 (Perez-Enciso y Misztal, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo 1 Ibérico x Ibérico: Las frecuencias alélicas de los seis SNPs genotipados se muestran en la Tabla 1. Cabe destacar que las frecuencias del SNP c.5634T>C en estos animales difieren de lo observado en los parentales Ibéricos del cruce IBMAP, en los que el alelo alternativo C está fijado.

Tabla 1. Frecuencias alélicas de los SNPs del gen ACACA genotipados en 170 cerdos Ibéricos puros

SNP	Alelo 1	Alelo 2
c.5634T>C	0.69	0.31
c.5715T>C	0	1
c.6225A>G	0.35	0.65
c.6639A>C	0.52	0.48
ALGA0066299T>C	0.52	0.48
g.53840T>C	0.34	0.66

En la Tabla 2 se muestran los efectos aditivos significativos de los genotipos ACACA sobre los ácidos grasos en grasa subcutánea e intramuscular. No se encontraron efectos dominantes significativos. En grasa subcutánea, se detectó una asociación significativa entre los polimorfismos c.5634T>C y c.6225A>G y los ácidos grasos butírico (C12:0) y mirístico (C14:0), con similar magnitud de los efectos estimados y pequeñas diferencias en su significación estadística. Por el contrario no se detectó asociación significativa entre ninguno de los SNPs analizados sobre los ácidos grasos C16:1(n-7), C18:0 y C18:1(n-7), para los que, en el cruce IBMAP, se habían detectado efectos del SNP c.5634 T>C. Por otro lado, se detectó un efecto del SNP c.5634T>C sobre el ácido gadoleico (C20:1) medido en grasa intramuscular, a diferencia de lo ocurrido en el cruce IBMAP, en el cual no se detectaron efectos significativos sobre este ácido graso.

Tabla 2. Efectos significativos de polimorfismos del gen ACACA en grasa subcutánea e intramuscular en cerdos Ibéricos y Duroc x Ibéricos

Tipo genético (Tejido)	Acido Graso	Media, %	SNP	a _{SNP} (ES)	LR	P
Ibérico (Subcutánea)	C12:0	0.07	c.5634T>C	0.003 (0.001)	9.96	0.002
			c.6225A>G	0.003 (0.001)	10.53	0.001
	C14:0	1.32	c.5634T>C	0.045 (0.015)	9.60	0.002
			c.6225A>G	0.044 (0.015)	8.92	0.003
Ibérico (Intramuscular)	C20:1	5.18	c.5634T>C	0.510 (0.020)	5.18	0.023
	C16:0	25.51		-0.499 (0.238)	4.23	0.040
	C17:0	0.11		0.006 (0.002)	5.33	0.021
	C17:1	0.13		0.010 (0.004)	5.91	0.015
	C18:0	11.68		-0.375 (0.192)	3.60	0.058
	C18:2 (n-3)	0.09	c.5634T>C	0.236 (0.101)	4.99	0.026
Duroc x Ibérico (Intramuscular)	C18:2 (n-6)	0.25		0.011 (0.005)	4.11	0.043
	C22:5 (n-3)	0.09		0.005 (0.003)	4.02	0.045
	SFA	39.12		-0.887 (0.423)	4.17	0.041
	PUFA	5.59		0.302 (0.133)	4.77	0.029

Ensayo 2 Duroc x Ibérico: Los genotipos del SNP *ACACA*: c.5634T>C presentan frecuencias alélicas intermedias (T = 0.48; C = 0.52) en los animales cruzados Duroc x Ibérico. El análisis de asociación no ha evidenciado efectos significativos del SNP sobre el contenido en grasa subcutánea, y de ningún ácido graso. Sí se detectaron numerosos efectos significativos de este polimorfismo en diferentes ácidos grasos medidos en grasa intramuscular (Tabla 2). Este mismo polimorfismo ha sido genotipado en una población comercial Duroc, aunque no se detectaron efectos significativos de este SNP sobre ácidos grasos, que sí fueron detectados para otros SNPs del gen *ACACA* no presentes en nuestro material (Gallardo et al., 2009).. Los efectos sobre la composición de ácidos grasos del SNP *ACACA*: c.5634T>C estimados en cerdos ibéricos puros y cruzados, y en ambos tejidos, difieren de los previamente detectados en el cruce IBMAP. Ello confirma la hipótesis de que la mutación analizada no es la mutación causal, aunque probablemente está en fuerte desequilibrio de ligamiento con la misma en algunas líneas de cerdo ibérico. Asimismo, este trabajo aporta nuevas evidencias sobre el diferente control genético del metabolismo de ácidos grasos en grasa dorsal subcutánea e intramuscular. Por otra parte, el efecto detectado en dos SNPs del gen, localizados de manera próxima, la extensa longitud del gen *ACACA* y el papel determinante en el metabolismo de ácidos grasos desempeñado por la proteína que codifica (Muñoz et al., 2007), indican que es probable que la mutación causal se encuentre dentro del mismo gen. Para proseguir su búsqueda, actualmente se está desarrollando la detección de polimorfismos en los exones que no se traducen localizados en la región 5'UTR del gen, no caracterizados hasta el momento en porcino.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos FIT-0600000-2006-23 y AGL2007-65563-C02-02/GAN. Agradecemos a María Ángeles López y a Rita Benítez su participación en el procesado de las muestras y extracción de ADN.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lichtenstein, A. H. 2006. *J. Lipid. Res.* 47: 1661-7.
- Gallardo et al. 2009. *Anim. Genet.* 40: 410-417
- Muñoz et al. 2007. *Anim. Genet.* 38: 639-46.
- Muñoz. et al. 2010. 32 Conference of Internat. Soc. Anim. Genet. Edimburgo.
- Perez-Enciso, M. & Misztal, I. 2004. *Bioinformatics* 20: 2792-8.
- Rodríguez et al., 2010. VII Congreso Internacional de Cerdo Mediterráneo. Córdoba.
- Ruiz et al. 1999. *Meat Sci.* 52: 19-27.
- Russo, V. & Nani Costa, L. 1995. *Pig News and Information* 16: 17N-26N.

VALIDATION OF SNP *ACACA*: c.5634T>C EFFECTS ON FATTY ACID COMPOSITION IN PUREBRED AND CROSSBRED IBERIAN PIGS

ABSTRACT: Fatty acid composition influences fat and meat quality as well as human health. In previous works, two QTLs on SSC12 with different effects on fatty acids of subcutaneous and intramuscular fat was reported in F2 (QTLA, backfat fatty acids), F3 and two backcrosses (QTLB, intramuscular fatty acids) of an experimental Iberian x Landrace cross (IBMAP). Moreover, *ACACA* was tested as functional and positional candidate gene and highly significant association was detected for *ACACA* SNP: c.5634T>C. In the present work genotyping of SNP c.5634T>C was carried out on purebred Iberian and crossbred Duroc x Iberian heavy pigs, in order to verify the analyzed polymorphism effects. Moreover, effects of other *ACACA* polymorphisms were analyzed in the purebred pigs. Significant effects of *ACACA* SNP: c.5634T>C were detected on the percentage of several fatty acids but, the effects differ in both populations, and also are different from those detected in the IBMAP cross in the two analyzed tissues. These results suggest that the polymorphism should be in strong linkage disequilibrium with the causal mutation which could be located into *ACACA* gene and also support the hypothesis of a tissue dependent genetic control underlying fatty acid metabolism.

Keywords: *ACACA*, fatty acids, linkage disequilibrium.