

MEJORA DEL CONTENIDO DE ÁCIDO OLEICO EN CARNE DE CERDO MEDIANTE SELECCIÓN DIRECTA Y MARCADORES MOLECULARES

Ros-Freixedes, R., Pena, R.N., Tor, M. y Estany¹, J.

Universitat de Lleida, Departament de Producció Animal, Rovira Roure, 191, 25198 Lleida
¹jestany@prodan.udl.cat

INTRODUCCIÓN

La composición de la grasa de los productos cárnicos es uno de los factores que determina su calidad nutricional. El contenido en ácido oleico (C18:1) se ha asociado con beneficios para la salud humana, mientras que la grasa saturada (SFA) se ha relacionado con un aumento del riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares y metabólicas. El valor nutricional de la grasa en carne se puede mejorar sustituyendo SFA por ácidos grasos monoinsaturados (MUFA). En un trabajo anterior mostramos que el contenido de C18:1 en grasa intramuscular (GIM) es altamente heredable (Ros-Freixedes et al., 2012a). Una posible estrategia para mejorar la calidad de GIM es, pues, la selección directa por C18:1 a partir de registros fenotípicos de parientes. Se han descrito algunos polimorfismos en la región promotora del gen estearoil-CoA desaturasa (*SCD*) (Ren et al., 2004), que codifica el enzima que regula la desaturación del ácido esteárico (C18:0) a C18:1, que pueden afectar la relación C18:1/C18:0 (Uemoto et al., 2012). Diversos experimentos en la población Duroc descrita a continuación han mostrado que la expresión de *SCD* está relacionada con el contenido (Cánovas et al., 2009) y el grado de desaturación de la grasa (Ros-Freixedes et al., 2012b). En este trabajo se presentan los primeros resultados de (1) la respuesta obtenida en un experimento de selección por C18:1 en GIM, y (2) un estudio de asociación de varios polimorfismos del gen *SCD* con C18:1.

MATERIAL Y MÉTODOS

Experimento de selección. Los cerdos procedieron de 3 lotes de la población Duroc descrita en Ros-Freixedes et al. (2012a). En cada lote independientemente se escogieron unos 90 cerdos, divididos en dos grupos de 45 según fueran escogidos al azar (control, C) o seleccionados (S) según el valor genético BLUP de la camada para C18:1 en GIM. La predicción del valor genético de C18:1 se basó en un modelo univariado sobre 943 registros de C18:1 obtenidos en muestras de *gluteus medius* de parientes tomadas en la línea de sacrificio. El modelo incluyó el lote como efecto sistemático y se resolvió asumiendo una heredabilidad de 0.41. El experimento contó con un total de 268 animales procedentes de 137 camadas y 28 verracos. El diferencial de selección promedio fue del 0.57%.

Manejo de los animales y obtención de muestras. Los cerdos fueron castrados y criados en condiciones comerciales con alimentación a voluntad y se sacrificaron a los 210 días. Se pesó la canal (PC), se midió el espesor de grasa dorsal (GD) y se estimó su porcentaje de magro (PM). Después de 24 h a 2°C, se les extrajo una muestra de *gluteus medius* (GM) del jamón izquierdo y, a un subconjunto de ellos, otra de *longissimus dorsi* (LD) entre la 3ª y 4ª últimas costillas. En ambos músculos se determinó por duplicado la composición en ácidos grasos (% de los ácidos grasos totales) y contenido de GIM (% de materia seca) mediante determinación cuantitativa por cromatografía de gases (Bosch et al., 2009).

Genotipado. Se extrajo ADN de las muestras de músculo. El genotipado del SNP AY487830:g.2281A>G, localizado en la región promotora del gen *SCD*, se realizó mediante un protocolo de discriminación alélica a partir de 10 ng de ADN genómico, utilizando sondas *TaqMan* alelo-específicas marcadas fluorescentemente. El genotipado se realizó cuantificando la acumulación de fluorescencia en un aparato de PCR a tiempo real 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems). Se genotiparon también los SNP g.2108C>T y g.2287T>C. Además de los animales del experimento de selección, se genotiparon más cerdos de la misma población con registros de C18:1, ascendiendo a un total de 616 animales procedentes de 7 lotes.

Análisis estadístico. La respuesta a la selección se analizó como la diferencia entre los valores genéticos medios de los cerdos en los grupos S y C con un modelo animal mixto univariado con el lote (1 a 15) como efecto sistemático. Se usaron los 1,205 registros de

C18:1 disponibles y una genealogía de 111,305 animales (años 1990-2012). Se usó el programa TM (Legarra et al., 2008). El efecto del polimorfismo en el conjunto de cerdos genotipados se analizó mediante un modelo que incluyó el lote (1 a 7) y el genotipo (AA, AG y GG). En este caso, también se contrastaron los efectos aditivo y dominante reemplazando los tres genotipos por las covariables a y d, codificadas como 1, 0, -1 y 0, 1, 0 para AA, AG y GG, respectivamente. Las diferencias entre genotipos se contrastaron con un test de Tukey-HSD ($p < 0.05$). Se utilizó el paquete estadístico JMP 8 (SAS Institute Inc., Cary, NC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran las características de la distribución marginal posterior de la respuesta a la selección. Se observó una moderada respuesta a la selección en el lote 1, pero inferior a la predicha. En el lote 2 la respuesta fue menor, y en el lote 3, nula. La disminución de la varianza genética en estos lotes y de la precisión de las predicciones utilizadas para asignar los cerdos a cada grupo (las evaluaciones genéticas en el lote 3 se hicieron a partir de datos de parientes sensiblemente más alejados temporal y genéticamente) podrían explicar estos resultados.

Tabla 1. Descripción del contenido de ácido oleico (%) y respuesta a la selección

Lote	n	Media (DT)	Respuesta a la selección		
			Media (DT)	HPD95 ¹	P(>0) ²
Total	268	45.36 (2.01)	+0.22 (0.15)	-0.08; +0.51	0.93
Lote 1	85	45.69 (2.88)	+0.38 (0.25)	-0.09; +0.90	0.94
Lote 2	96	44.67 (1.41)	+0.25 (0.24)	-0.22; +0.70	0.86
Lote 3	87	45.80 (1.19)	+0.03 (0.25)	-0.42; +0.57	0.54

¹Intervalo mínimo de máxima densidad al 95% de probabilidad. ²Probabilidad de que la respuesta sea positiva.

En la Tabla 2 se muestra el efecto del polimorfismo *g.2281A>G* del gen *SCD* sobre los caracteres de composición de la canal y composición de la grasa. El alelo A se asocia favorablemente a un mayor contenido de C18:1 (MUFA) y del índice C18:1/C18:0 (MUFA/SFA) sin afectar a GIM ni PC, GD o PM. El polimorfismo presenta un modo de acción génica aditivo, con un efecto de sustitución para C18:1 entre 0.7 y 0.8%, en GM y LD, respectivamente.

Tabla 2. Efecto del SNP *SCD g.2281A>G* sobre caracteres de canal y composición de la grasa intramuscular (n=616, LD: n=236)

Carácter ¹	Diferencias entre genotipos ²				Efecto aditivo (a) y dominante (d)			
	AA	AG	GG	p-valor	a	p-valor	d	p-valor
PC, kg	93.13	93.83	93.33	0.73	-0.101	0.85	0.596	0.43
GD, mm	22.29	22.48	22.48	0.88	-0.097	0.65	0.093	0.75
PM, %	44.30	43.88	43.95	0.71	0.179	0.53	-0.242	0.54
Músculo GM								
GIM, %MS	15.32	14.95	15.08	0.75	0.122	0.65	-0.247	0.50
C18:1, %	46.77 ^a	45.98 ^b	45.31 ^c	<0.001	0.726	<0.001	-0.060	0.73
MUFA, %	51.59 ^a	50.41 ^b	49.50 ^c	<0.001	1.047	<0.001	-0.137	0.47
C18:1/C18:0	4.85 ^a	4.50 ^b	4.15 ^c	<0.001	0.349	<0.001	0.003	0.95
MUFA/SFA	1.53 ^a	1.46 ^b	1.39 ^c	<0.001	0.071	<0.001	-0.004	0.72
Músculo LD								
GIM, %MS	11.39	11.39	11.13	0.86	0.131	0.69	0.128	0.77
C18:1, %	47.65 ^a	46.59 ^b	46.04 ^b	<0.001	0.806	<0.001	-0.259	0.28
MUFA, %	52.63 ^a	51.30 ^b	50.41 ^c	<0.001	1.108	<0.001	-0.220	0.40
C18:1/C18:0	4.68 ^a	4.23 ^b	3.97 ^c	<0.001	0.355	<0.001	-0.090	0.16
MUFA/SFA	1.50 ^a	1.40 ^b	1.35 ^c	<0.001	0.073	<0.001	-0.022	0.14

¹ Abreviaturas definidas en el texto. ² f(AA)=0.19; f(AG)=0.50; f(GG)=0.31.

^{a-c} Superíndices distintos indican diferencias significativas entre genotipos ($p < 0.05$).

El efecto favorable del alelo A también se dio en músculo semimembranoso y en grasa subcutánea, y fue consistente en todos los lotes. Por otra parte, se ha comprobado que el polimorfismo está presente también en otras poblaciones. Uemoto et al. (2012) encontraron, también en Duroc, que los SNP *g.2108C>T* y *g.2228T>C* del promotor del gen *SCD* estaban asociados a C18:1 en GIM y grasa subcutánea, con un efecto aditivo del haplotipo CT de una magnitud similar a la aquí encontrada. En otros tipos genéticos, aunque se ha observado que este último polimorfismo se asocia con la composición de la grasa, los resultados con respecto a C18:1 no son tan evidentes ni consistentes (Maharani et al., 2013; Renaville et al., 2013). En nuestro caso, el alelo A de *g.2281A>G* forma un haplotipo muy estable con los alelos C y T de *g.2108C>T* y *g.2228T>C*, respectivamente, y alcanza a explicar un 12% de la variancia aditiva de C18:1 en GIM. La frecuencia del alelo A en nuestra población es suficientemente elevada (0.44) como para, si se fija, aumentar un 0.83% el promedio del contenido en C18:1 de la carne de cerdo. La frecuencia de A en el grupo S sólo fue superior a la del grupo C en el lote 1.

Se recomienda no seleccionar por C18:1 sin antes haber implementado un sistema rutinario de registro de C18:1 con el que poder evaluar a los candidatos a la selección con un número suficiente de datos fenotípicos de familiares próximos. En cualquier caso, alternativa o complementariamente a la selección directa, el marcador estudiado se propone como un criterio útil para mejorar C18:1. El que presente un efecto aditivo consistente y relevante, a la vez que segregue a frecuencias intermedias, convierten a este haplotipo en un firme candidato a utilizarse en la selección por C18:1 (MUFA), máxime cuando no parece alterar negativamente ni el contenido de GIM ni los demás caracteres productivos analizados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bosch, Tor, Reixach & Estany. 2009. Meat Sci. 82: 432-437. • Cánovas, Estany, Tor, Pena & Doran. 2009. J. Anim. Sci. 87: 3905-3914. • Legarra, Varona & López de Maturana. 2008. Manual TM (<http://cat.toulouse.inra.fr/~alegarra/>). • Maharani, Park, Lee, Yoo, Lim, Han, Lee, Ko, Cho & Lee. 2013. Mol. Biol. Rep. 40: 73-80. • Ren, Knorr, Guo, Ding, Ai, Brenig & Huang. 2004. Anim. Genet. 35: 245-264. • Renaville, Prandi, Fan, Sepulcri, Rothschild & Piasentier. 2013. Meat Sci. 93: 495-500. • Ros-Freixedes, Reixach, Tor & Estany. 2012a. J. Anim. Sci. 90: 4230-4238. • Ros-Freixedes, Pena, Tor & Estany. 2012b. XVI Reunión de Mejora Genética Animal, Ciutadella de Menorca. • Uemoto, Nakano, Kikuchi, Sato, Ishida, Shibata, Kadowaki, Kobayashi & Suzuki. 2012. Anim. Genet. 43: 225-228.

Agradecimientos: Agradecemos a Josep Reixach de Selección Batallé la colaboración en el experimento. Proyecto financiado por el MICINN (AGL2009-09779). R. Ros-Freixedes es beneficiario de una beca FPI (BES-2010-034607).

BREEDING FOR HIGH OLEIC ACID CONTENT IN PORK USING DIRECT SELECTION AND MOLECULAR MARKERS

ABSTRACT: Nutritional value of pork can be improved by replacing saturated fatty acids (SFA) in intramuscular fat (IMF) with monounsaturated fatty acids (MUFA), particularly oleic acid (C18:1). A one-generation selection experiment for C18:1 in *gluteus medius* based on phenotypic values of relatives was performed. Pigs in the experiment were also genotyped for the AY487830:*g.2281A>G* SNP polymorphism in the promoter region of the *SCD* gene. Results indicate that C18:1 may respond to direct selection if candidates are evaluated accurately. The allele A proved to be consistently associated to enhanced C18:1 and MUFA. The polymorphism did not affect IMF and production traits. It is concluded that, complementarily or alternatively, the *SCD* polymorphism can be used as a molecular marker for C18:1 in selection schemes.

Keywords: desaturation index, oleic acid, selection, stearoyl-CoA desaturase