

ASOCIACIÓN DE UN POLIMORFISMO DEL GEN *FADS2* CON EL CONTENIDO Y LA COMPOSICIÓN DE LA GRASA INTRAMUSCULAR EN CERDOS DUROC

Gol¹, S., Pena¹, R. N., Tor¹, M. y Estany¹, J.

¹Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida - Agrotecnio Center, Avenida Alcalde Rovira Roure 191, 25198, Lleida.
sgol@ca.udl.cat

INTRODUCCIÓN

El gen de la desaturasa 2 (*FADS2*), también conocido como delta-6-desaturasa, codifica a la enzima responsable de catalizar el paso limitante de la formación de ácidos grasos polinsaturados (PUFA) de cadena larga (Baylin et al., 2007). Concretamente, es el enzima clave para la ruta de desaturación/elongación que convierte el ácido linoleico (C18:2) en ácido araquidónico (C20:4). Alternativamente, C18:2 puede elongarse a ácido eicosadienoico (C20:2). En la especie porcina, *FADS2* se localiza en el cromosoma 2 en la región 2:9119389-9152215 (*assembly* Sscrofa10.2). En un trabajo previo se mostró la existencia de polimorfismos en la zona del promotor del gen *FADS2* que podrían asociarse con el engrasamiento de la canal (Pena et al., 2014). Recientes estudios de asociación genómica en cerdos Duroc (Ros-Freixedes et al., 2016) y Erhualian (Zhang et al., 2016) han encontrado evidencias de asociación entre marcadores situados en esta región donde se localiza *FADS2* y el contenido de grasa intramuscular y los PUFA de cadena larga. El objetivo del presente trabajo ha sido explorar con mayor detalle la asociación de un polimorfismo en el promotor del gen *FADS2* con el contenido y composición de la grasa en una línea de cerdos Duroc.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material animal. Se han utilizado 475 machos castrados Duroc procedentes de 6 lotes de engorde. Los cerdos fueron criados en condiciones comerciales con alimentación a voluntad. A todos ellos se les controló el peso y el espesor de la grasa dorsal a los 180 días de edad. Los cerdos se sacrificaron a los 210 días de edad, momento en el que se les pesó la canal y se les midió el espesor de la grasa dorsal. Después de 24 h a 2°C, se les extrajo una muestra del músculo gluteus medius (GM) del jamón izquierdo y otra del músculo longissimus dorsi (LD) entre la 3ª y 4ª últimas costillas. En ambos músculos se determinó por duplicado el contenido y la composición en ácidos grasos de la grasa intramuscular (GIM) mediante determinación cuantitativa por cromatografía de gases (Bosch et al., 2009). En cada músculo se calcularon los índices C20:4/C18:2; C20:2/C18:2 y C20:4/C20:2 como indicadores de la actividad de la enzima *FADS2*.

Genotipado. El ADN de estos animales fue extraído a partir de muestras de músculo mediante un protocolo estándar. Se secuenció el promotor proximal de *FADS2* y se identificaron 6 polimorfismos, el tercero de los cuales, una sustitución G>A fue elegido para los análisis y se genotipó mediante un protocolo de PCR-RFLP con la enzima *AvaI*. El polimorfismo del exón 14 del gen *LEPR*, cuyo alelo T está asociado a un mayor engrasamiento (Óvilo et al., 2005), se genotipó mediante un protocolo de High Resolution Melting en un termociclador a tiempo real CFX-100 (Bio-Rad).

Análisis de asociación. Las diferencias entre genotipos del gen *FADS2* para los caracteres relacionados con la composición de la grasa se analizaron utilizando un modelo animal que incluyó, como factores fijos, el lote (6 niveles), el genotipo *LEPR* (3 niveles), el genotipo *FADS2* (3 niveles) y la covariable GIM. Para GIM, la covariable empleada fue la edad al sacrificio. El modelo se resolvió usando el programa JMP PRO 12 (SAS Institute Inc.) y las diferencias entre genotipos se contrastaron con un test de TukeyHSD ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La frecuencia del alelo A de *FADS2* fue de 0,31. El polimorfismo del exón 14 de *LEPR* segrega en esta población Duroc a frecuencias intermedias (Ros-Freixedes et al., 2016) por lo que este genotipo también se incluyó en el modelo. Los efectos del polimorfismo de *FADS2* se presentan en la Tabla 1. Los análisis llevados a cabo en el presente trabajo no muestran evidencia de asociación entre el SNP de *FADS2* y los caracteres de peso y grasa dorsal a 180 días y en canal. Tampoco se detectaron efectos en la composición de la grasa subcutánea (datos no mostrados). Sin embargo, sí se encontraron asociaciones con los caracteres de contenido y composición de GIM. En ambos músculos analizados (GM y LD), el alelo G se relacionó favorablemente con un mayor contenido de GIM. Los ácidos grasos y las ratios analizadas en este trabajo se relacionan con el contenido en ácidos grasos omega 6, cuyo consumo excesivo es perjudicial para la salud. Así, para C20:4, el ácido graso resultante de la ruta metabólica en la que interviene *FADS2*, el alelo G presentó un efecto favorable reduciendo su contenido. Concretamente, los animales GG presentaron un 13,8% y un 11,5% menos de C20:4 en comparación con los animales AA en LD y GM, respectivamente. En consecuencia, en ambos músculos los índices C20:4/C18:2 y C20:4/C20:2 fueron inferiores en los cerdos GG. La ratio C20:2/C18:2 se vio afectada en sentido contrario en el músculo GM. Si se considera que el alelo G es el deficitario en *FADS2*, los cerdos con menos niveles de *FADS2* presentaron una mayor ratio C20:2/C18:2.

A pesar de que distintos estudios en humano y ratón correlacionan mutaciones en *FADS2* con el síndrome metabólico y la obesidad (Stoffel et al., 2008; Truong et al., 2009), los análisis llevados en el presente trabajo no corroboran estos resultados. El polimorfismo analizado no afectó el crecimiento ni el engorde de los cerdos. Nuestros resultados son consistentes con los encontrados por Renaville et al. (2012) en diversos cruces comerciales utilizados en Italia para la producción de jamón curado. En dicho trabajo, un polimorfismo en el exón 3 de *FADS2* se asoció con el contenido de IMF y de C20:4 en el músculo LD. El efecto detectado en nuestro trabajo para la ratio C20:2/C18:2 concuerda con el cambio en la ruta del metabolismo de C18:2 observado en ratones deficientes en *FADS2* (Stoffel et al., 2014). En humanos, los niveles citoplasmáticos de C20:4 muestran asociación con mutaciones en el promotor del gen *FADS2* debido a cambios en la expresión de este gen (Schaeffer et al., 2006).

Actualmente estamos analizando si la mutación del promotor porcino conlleva cambios en el estado de metilación de esta región y si se ve afectada la expresión de este gen tanto en músculo como en grasa dorsal. En su conjunto, los resultados del presente estudio sugieren que *FADS2* podría ser un marcador útil en Duroc para la mejora del contenido de GIM sin perjudicar el peso magro de la canal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Baylin, A. et al. 2007. *Am. J. Clin. R.* 85: 554-560. • Bosch, L. et al. 2009. *Meat Sci.* 82:432-437. • Óvilo, C. et al. 2005. *Gen. Res.* 85:57-67 • Pena, R. et al. 2014. XVII Reunión Mejora Gen. 45. • Renaville, B. et al. 2012. *Meat Sci.* 93: 495-500. • Ros-Freixedes, R. et al. 2016. *Plos One.* 3: e0152496. • Schaeffer, L. et al. 2006. *Hum. Mol. Gen.* 15:745–1756 • Stoffel, W. et al. 2008. *Embo J.* 27: 2281-2292. • Stoffel, W. et al. 2014. *Sci. Rep.* 15: 110-120. • Truong, H. et al. 2009. *Am. J. Clin. Nutr.* 89:220-225 • Zhang, W. et al. 2016. *Sci. Rep.* 6.

Agradecimientos: S. Gol es beneficiaria de una beca FPU (BES-2014-FPU13/04975). Proyecto financiado por el MINECO (AGL2015-65846-R).

Tabla 1. Medias mínimo-cuadráticas (\pm error típico) del contenido (en % del total de ácidos grasos) y la composición de la grasa intramuscular (GIM, en % de materia seca) en los músculos gluteus medius (GM) y longissimus dorsi (LM) según el genotipo del promotor *FADS2*.

Carácter	GENOTIPO sustitución G>A promotor <i>FADS2</i>			p-valor
	AA	AG	GG	
	n= 54	n= 191	n= 230	
P180d, kg	111,13 \pm 1,43	112,12 \pm 0,78	112,10 \pm 0,73	n,s,
GD180d, mm	19,02 \pm 0,49	19,25 \pm 0,27	19,73 \pm 0,25	n,s,
PC, kg	98,65 \pm 1,31	99,12 \pm 0,73	99,21 \pm 0,67	n,s,
GDC, mm	22,60 \pm 0,53	22,65 \pm 0,29	23,36 \pm 0,27	n,s,
Músculo GM				
GIM, % ms	17,32 \pm 0,73	17,84 \pm 0,40	19,00 \pm 0,40	<0,05
C18:2, %	10,42 \pm 0,18	10,95 \pm 0,10	10,88 \pm 0,10	n,s,
C20:2, %	0,45 \pm 0,01 ^b	0,48 \pm 0,01 ^a	0,49 \pm 0,01 ^a	<0,001
C20:4, %	1,23 \pm 0,04 ^a	1,19 \pm 0,02 ^a	1,06 \pm 0,02 ^b	<0,001
C20:4/C18:2 (x10)	1,17 \pm 0,03 ^a	1,08 \pm 0,02 ^a	0,98 \pm 0,02 ^b	<0,001
C20:2/C18:2 (x100)	4,38 \pm 0,07 ^b	4,50 \pm 0,04 ^{ab}	4,60 \pm 0,04 ^a	<0,01
C20:4/C20:2	2,84 \pm 0,10 ^a	2,53 \pm 0,05 ^b	2,21 \pm 0,05 ^c	<0,001
Músculo LD				
GIM, %ms	13,10 \pm 0,66	12,47 \pm 0,32	13,50 \pm 0,32	<0,05
C18:2, %	8,77 \pm 0,24	8,87 \pm 0,12	8,58 \pm 0,10	n,s,
C20:2, %	0,38 \pm 0,01	0,37 \pm 0,01	0,37 \pm 0,01	n,s,
C20:4, %	1,48 \pm 0,06 ^a	1,45 \pm 0,03 ^a	1,31 \pm 0,03 ^b	<0,01
C20:4/C18:2 (x10)	1,65 \pm 0,06 ^a	1,59 \pm 0,03 ^a	1,49 \pm 0,03 ^b	<0,01
C20:2/C18:2 (x100)	4,34 \pm 0,11	4,18 \pm 0,06	4,20 \pm 0,05	n,s,
C20:4/C20:2	4,03 \pm 0,18 ^{ab}	3,92 \pm 0,09 ^a	3,62 \pm 0,09 ^b	<0,05

^{a-c} Dentro de cada línea, superíndices distintos indican diferencias significativas entre genotipos (p<0.05).

ASSOCIATION OF A POLYMORPHISM OF THE *FADS2* GENE WITH THE INTRAMUSCULAR FAT CONTENT AND COMPOSITION IN DUROC PIGS

ABSTRACT: A recent genome-wide association study in Duroc revealed evidences of a locus affecting fat content at chromosome 2, which co-localizes with *FADS2*. This gene encodes for a delta-6-desaturase involved in the synthesis of long polyunsaturated fatty acids. In this study a G>A SNP in the promoter of the *FADS2* gene was evaluated regarding its effect over growth and fat composition in pigs. A total of 475 Duroc barrows from 6 rearing lots were genotyped. No evidence of association was found for body weight and backfat thickness at different ages but the mutation proved to be consistently associated with intramuscular fat (IMF) and C20:4 content, both in the gluteus medius and longissimus dorsi muscles. In particular, pigs carrying the G allele showed higher IMF. Thus, this mutation in the *FADS2* promoter could be a potentially useful marker for meat quality traits in Duroc.

Keywords: *FADS2*, Duroc, intramuscular fat, omega-6 fatty acids