

POLIMORFISMO DEL GEN STEAROYL COA DESATURASA EN CERDO IBÉRICO: RESULTADOS PRELIMINARES

Membrillo A.¹, Clemente I.¹, Azor P.J.¹, Jiménez A.M.¹, Santos E.¹, Dorado G.² y Molina, A.¹

¹ Grupo MERAGEM. Departamento de Genética. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. España. E-mail: agr158bovinos@gmail.com

² Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba. España.

INTRODUCCIÓN

La calidad de los productos del cerdo ibérico responden a la sencilla fórmula: genética y alimentación y aunque no se conocen con exactitud las rutas metabólicas que hacen que el Cerdo Ibérico aproveche los nutrientes de la bellota y metabolizarlos en los compuestos responsables de las características organolépticas que hacen que sus productos sean tan cotizados, si existen experiencias que demuestran que la calidad de estos productos de otras razas sea muy inferior en las mismas condiciones de alimentación con bellota. De la misma forma, la alimentación del cerdo ibérico con piensos convencionales determina una merma clara de las propiedades de sus productos. Es esencial por lo tanto, el análisis de la interacción entre compuestos químicos aportados por una alimentación en montanera y los genes responsables de su transformación en los metabolitos que van a dar lugar a una calidad diferencial. La búsqueda de genes relacionados con la calidad de la carne ha sido y es uno de los objetivos en los últimos años. En esta línea, los resultados obtenidos por los estudios relacionados con este tema se refieren a la localización de QTLs y genes concretos cuya acción metabólica es conocida. Así se han estudiado genes relacionados con la calidad de la carne, como el gen de la rianodina (halotano), MC4R (Oviló *et al.* 2006), la miostatina (Stickens *et al.* 56th EAAP anual meeting), el IGF2, los genes

FABP (Oviló *et al.* 2001, Gerbens *et al.* 1997.) y el gen de la Acetil-CoA carboxilasa (Gallardo *et al.* 2003) entre otros. Uno de los principales genes relacionado con el perfil de ácidos grasos es el gen de la SCD (Stearoyl CoA Desaturasa) enzima que cataliza la oxidación en el retículo endoplásmico de una serie de ácidos grasos entre los carbonos 9 y 10 provocando la aparición de un enlace doble (Ren *et al.*, 2004) y por lo tanto su transformación en ácido graso insaturado como el oleico.

En esta comunicación, se realiza un primer análisis del polimorfismo de este gen en una muestra representativa de las principales estirpes del cerdo ibérico utilizando como contraste diversas razas no ibéricas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la obtención de ADN genómico se tomaron muestras biológicas (sangre o músculo) de 15 individuos de la raza Ibérica, y 10 de otras razas (Duroc Jersey, Landrace, Large White y Hampshire). La sangre se extrajo mediante punción en el seno infraorbitario del animal utilizando tubos vacutainer con EDTA K3 como anticoagulante.

La extracción del ADN genómico se llevó a cabo por las técnicas de salting out (Miller *et al.*, 1998) o a partir de un kit comercial de extracción de Qiagen® en función del tipo de muestra.

Amplificación y secuenciación del gen de la Stearoyl CoA Desaturasa porcina. Una vez obtenido el ADN se amplificó 1 fragmento de ADN pertenecientes al gen SCD (*GenBank Accessions AY487830*). La longitud del fragmento analizado tiene una longitud de 686 pb. contenido dentro promotor del gen. Las amplificaciones se llevaron a cabo mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un termociclador Eppendorf (®Eppendorf AG, Hamburg, Germany). Los cebadores empleados en la PCR se diseñaron con la aplicación informática *Primer3*®. Los *amplicones* se purificaron y comprobaron en un gel de agarosa al 2 % con *bromuro de etidio*. La reacción de secuenciación se realizó en un secuenciador automático ABI 3130 (Applied Biosystems®).

Búsqueda de polimorfismos y tratamiento estadístico. Las secuencias fueron examinadas y alineadas con el programa *Sequencher* v.4.7 (®Gene Codes Corporation, 1991-2006). Una vez alineadas y comparadas con las secuencias publicadas en diversos artículos y en el *GenBank* se detectaron los sitios polimórficos y se determinaron los correspondientes genotipos. La estimación de las frecuencias fue realizada por simple conteo dado el carácter codominante de los marcadores SNPs. Para el cálculo de las frecuencias de aparición de cada uno de los alelos en los polimorfismos (SNPs) y para la

comparación entre las razas analizadas y otras obtenidas del GeneBank se utilizó el programa informático *Statistica v. 6.0.*[®]

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectaron polimorfismos de tipo SNP (Single Nucleotide Polymorphism) en 3 posiciones del gen (tabla 1), uno de las cuales no estaba descrito en estudios anteriores de este gen (Ren *et al.*, 2004).

Tabla 1. Descripción de los SNPs encontrados en el gen SCD porcino.

Locus	SCD-3	SCD-3	SCD-3
Posición	2108	2228	2281
Cambio Nucleotídico	C/T	C/T	A/G

En la tabla 2 se muestran las frecuencias de los polimorfismos de los alelos encontrados en el promotor del gen de la Stearoyl CoA desaturasa. Se observan diferencias significativas entre las frecuencias de los polimorfismos por razas.

Tabla 2. Frecuencias alélicas de cada una de las razas en los distintos marcadores.

Gen	Posición	Alelos	IBE	DUR	LW	HAM	LAN
SCD-3	2108	C	1,00	0,25	0,75	1,00	1,00
		T	0,00	0,75	0,25	0,00	0,00
SCD-3	2228	C	0,00	0,75	0,25	0,00	0,00
		T	1,00	0,25	0,75	1,00	1,00
SCD-3	2281	A	1,00	0,25	1,00	1,00	1,00
		G	0,00	0,75	0,00	0,00	0,00

(IBE: Ibérico, DUR: Duroc, LW: Large White, HAM: Hampshire, LAN: Landrace)

En el cerdo Ibérico, Hampshire y Landrace parecen estar fijados los mismos polimorfismos para los alelos de este gen que codifica una enzima que interviene directamente en el perfil de ácidos grasos. Con respecto a Duroc, y Large White se observa frecuencias variables.

CONCLUSIONES

Pese a que todos estos resultados deben tomarse con precaución dado el pequeño tamaño muestral utilizado principalmente de las razas no ibéricas, podemos concluir que existen diferencias en las frecuencias alélicas observadas en Duroc y Large White ya que presentan mayor número de alelos distintos para este gen, en comparación con el ibérico. Lo mismo que hemos comentado para el ibérico podría decirse de las razas Hampshire y Landrace. En un futuro se realizarán análisis más completos del gen con el fin de localizar polimorfismos que afecten a la capacidad de funcionamiento de la enzima y poder correlacionar polimorfismos de este gen con determinados perfiles de ácidos grasos que también han de analizarse junto con otras características de la canal y de la carne.

Los polimorfismos descritos en este trabajo son útiles no sólo para la caracterización de la enzima y su relación con el perfil de ácidos grasos de los animales, sino que también presentan características para servir como herramienta en la trazabilidad entre razas.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido posible gracias a la financiación de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía a través del convenio específico de colaboración "Genómica del cerdo Ibérico" y el grupo de investigación MERAGEM PAI AGR 158 y a la estrecha colaboración de AECERIBER, Diputación de Cádiz y Diputación de Huelva.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gallardo, D.; Gillet, J.; Ramírez, O.; Sánchez, A.; Amills, M. Caracterización molecular del gen de la Acetil-CoA carboxilasa a (ACACA) porcina. ITEA 2003
- Gerbens, F.; Rettenberger, G.; Lenstra, J.A., Veerkamp, J.H., Pas. M. Characterization, chromosomal localization, and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gene. *Mammalian Genome* 8, 328-332. (1997)
- Mercadé, A.; Pérez-Enciso, M.; Varona, L.; Alves, E.; Noguera, J.L.; Sánchez, J.M. Estudio de asociación del efecto del gen FABP4 en un cruce entre ibérico y landrace. AIDA 2005.
- Miller *et al.* 1998. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Ac Res* (1988), 16: 1215

- Óvilo, C.; De Pedro, E.; Barragán, C.; García, J.; Castellanos, C.; Alves, E.; Rodríguez, C.; Toro, M.; Silió, L. Efecto de genes de transporte de ácidos grasos FABP3 y FABP4 sobre el contenido de grasa intramuscular y la composición de ácidos grasos en cerdos ibéricos. ITEA 2001 Vol. Extra 22: 124-126.
- Óvilo, C.; Fernández, A.; Rodríguez, M.C.; Nieto, M.; Silió, L. Association of MC4R gene variants with growth, fatness, carcass composition and meat and fat quality traits in heavy pigs. *Meat Science* 73 (2006) 42-47.
- Ren, J.; Knorr, C.; Guo, Y.-M.; Ding, N.-S.; Ai, H.-S.; Brenig B.; and Huang, L.-S. Characterization of five single nucleotide polymorphisms in the porcine stearoyl-CoA desaturase (SCD) gene. *Animal Genetics*. Volume 35 Issue 3 Page 255 - June 2004.
- Stinckens, A.; Bijttebier, T.; Luyten, K.; van den Maadgdenberg, Harmegnies, S. Smet, S.; Georges, M.; Buys, N. The sequence of myostatin in double-muscléd pigs. 56th EAAP anual meeting.