ASOCIACIÓN DE UN POLIMORFISMO EN EL GEN *PLIN2* CON CARACTERES DE CRECIMIENTO EN CERDOS DUROC

Gol, S.[1,2], Ros-Freixedes, R.[1], Bigi, M.[2], Braglia, S.[2], Tor, M.[1],
Pena, R. N.[1], Estany, J.[1] y Davoli, R.[2]
[1] Departament de Producció Animal, Universitat de Lleida, 25198 Lleida
[2] DISTAL Department of Agricultural and Food Science, Università di Bologna, 42100 Italy.
jestany@prodan.udl.cat

INTRODUCCIÓN

Las perilipinas (PLIN) son una familia de proteínas localizadas en la membrana de las vacuolas lipídicas intracelulares (Greenberg et al., 1991). Los genes *PLIN1* y *PLIN2*, como miembros principales, ejercen un papel importante en la regulación de la lipólisis permitiendo o restringiendo el acceso de las lipasas al interior de las vacuolas lipídicas, donde se almacenan los triglicéridos (Brasaemle et al., 2000). En la especie porcina, *PLIN1* y *PLIN2* se localizan en los cromosomas 7 (Tao et al., 2008) y 1 (Kim et al., 2005) respectivamente, en regiones donde se han descrito QTLs con efecto sobre caracteres de crecimiento y de calidad de la carne. Gandolfi et al. (2011) confirmaron que ambos genes se expresan en el músculo esquelético del cerdo adulto. En un estudio previo, Davoli et al. (2010) observaron en Duroc Italiano que el polimorfismo sinónimo, situado en la región 3'UTR *GU46131:g.98G>A* de *PLIN2* estaba asociado con caracteres de la canal. El objetivo del presente trabajo ha sido explorar evidencias de asociación de los polimorfismos JN860199:g.173G>A, situado en el exón 2 de PLIN1, y *GU46131:g.98G>A* de *PLIN2* con el conjunto de caracteres productivos y de calidad de carne y grasa en una línea Duroc diferenciada genéticamente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material animal. Se han utilizado 268 machos castrados Duroc procedentes de 137 hembras y 28 machos (Ros-Freixedes et al., 2012). A todos ellos se les controló el peso (P) y la grasa dorsal (GD) a los 120 y 205 días de edad. La GD se midió mediante ultrasonidos (*Piglog 105*) a la altura de la última costilla, a unos 5 cm de la línea media. Durante la prueba los cerdos se alimentaron ad líbitum con dietas comerciales y se sacrificaron a los 210 días de edad. A todos ellos se les registró el peso (PC), grasa dorsal (GDC) y la longitud (LC) de la canal, medida desde la primera costilla hasta el extremo anterior de la sínfisis pubiana, así como el porcentaje de magro (MC) estimado mediante un equipo AutoFOM. El peso de magro de la canal (PMC) se estimó a partir de PC y MC. Después de 24 h a 2º C, se pesó el jamón izquierdo (PJ) y se extrajo una muestra representativa de los músculos *gluteus medius* (GM) y *longissimus dorsi* (LM). En ambos músculos se determinó el contenido de grasa intramuscular (GIMGM y GIMLM, respectivamente) de acuerdo con la metodología descrita en Bosch et al (2009). El número de animales y caracteres analizado en este experimento se detalla en la Tabla 1.

Genotipado. El ADN de estos animales fue extraído a partir de muestras de sangre mediante un protocolo estándar. Se determinó el genotipo para dos SNP, uno en el gen *PLIN1* y otro en el *PLIN2*. El SNP *JN860199:g.173G>A* de *PLIN1* fue genotipado mediante una PCR-RFLP con la enzima *Nla*III, mientras que el SNP *GU46131:g.98G>A* de *PLIN2*, se genotipó mediante qPCR a tiempo real (SYBR green), usando el análisis High Resolution Melt, del instrumento Rotor gene 6000 (Corbett) (Davoli et al., 2010).

Tabla 1. *Número de cerdos, media y desviación estándar (DT) de los caracteres analizados*

Carácter[1]	n	Media	DT
P120d, kg	268	62.13	9.71
P205d, kg	268	123.96	9.66
PC, kg	265	94.06	7.56
GD120d, mm	268	11.41	3.03
GDC, mm	247	21.97	3.66
LC, cm	265	86.39	2.73
MC,%	247	44.50	5.00
PMC, kg	247	41.60	4.96
PJ, kg	266	12.28	1.10
GIMGM, %ms	268	15.63	5.09
GIMLM, %ms	131	10.51	3.02

[1] Abreviaciones en el texto

Análisis de asociación. Las diferencias entre genotipos se analizaron mediante metodología bayesiana utilizando un modelo animal que incluyó, como factores sistemáticos, el genotipo (3 niveles), el lote (3 niveles) y la covariable edad. Los efectos aditivo y dominante asociados a cada genotipo se contrastaron reemplazando el efecto del genotipo por las covariables X_a y X_d, codificadas como (1, 0, -1) y (0, 1, 0) para el homocigoto más frecuente, el heterocigoto y el homocigoto menos frecuente, respectivamente. El modelo se resolvió usando el programa TM (Legarra et al., 2008) y las muestras se derivaron de muestras extraídas de la distribución marginal posterior usando una cadena de 500,000 iteraciones, descartando las 100,000 primeras y reteniendo una de cada 100. El cálculo de los estadísticos de la distribución marginal se hizo mediante el paquete BOA (Smith, 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La distribución de los animales por genotipo se indica en la Tabla 2. El alelo A presentó una frecuencia génica de 0.70 en *PLIN1* y de 0.57 en *PLIN2*, por lo que ambos SNP segregan en la población Duroc estudiada.

Tabla 2. *Número de cerdos (n) y frecuencia genotípica para PLIN1 y PLIN2*

		Frecuencia genotípica		
Polimorfismo	n	AA	AG	GG
PLIN1 (JN860199:g.173G>A)	268	0.19	0.48	0.32
PLIN2 (GU46131:g.98G>A)	261	0.09	0.42	0.49

A pesar de que distintos estudios en humano y ratón indican correlación de *PLIN1* con el peso corporal (Qi et al., 2004;Tansey et al., 2001), los análisis llevados a cabo en el presente trabajo no muestran evidencia de asociación entre el SNP en *PLIN1* y los caracteres analizados (datos no mostrados). Sin embargo, sí se encontraron asociaciones entre el SNP de *PLIN2* y los caracteres de crecimiento y de la calidad de la carne (Tabla 3). En particular, el alelo A afectó favorablemente y de forma aditiva el peso vivo, aunque su efecto fue menor con la edad (2.00, 1.62, y 1.37 kg, para P120d, P205d y PC, respectivamente). De forma correlativa, el alelo A se asocia a un aumento de LC (0.56 cm), PJ (0.13 kg) y PMC (0.90 kg). Estos resultados son consistentes con los encontrados para este mismo SNP en una población de Duroc Italiano (Davoli et al., 2010).

Tabla 3 *Efecto del SNP GU46131:g.98G>A de PLIN2 en los caracteres analizados.*

	Diferencias entre genotipos				Efectos aditivo (a) y dominante (d)			
Carácter[1]	AA-AG	P(>0)[2]	AA-GG	P(>0)[2]	a	P(>0)[2]	d	P(>0)[2]
P120d, kg	0.98	0.82	3.92	**>0.99**	2.00	**>0.99**	1.16	0.90
P205d, kg	0.18	0.56	3.43	**0.98**	1.62	**0.95**	1.16	0.81
PC, kg	-0.41	0.38	2.55	**0.94**	1.27	**0.94**	1.61	**0.92**
GD120d, mm	0.14	0.67	0.63	**0.95**	0.31	**0.95**	0.12	0.67
GDC, mm	-0.52	0.15	-0.59	0.17	-0.31	0.16	0.23	0.69
LC, cm	0.16	0.65	1.24	**0.99**	0.56	**0.98**	0.28	0.77
MC,%	0.01	0.51	1.17	**0.88**	0.69	**0.91**	0.76	0.87
PMC, kg	0.33	0.66	1.80	**0.97**	0.90	**0.97**	0.54	0.79
PJ, kg	0.17	0.87	0.26	**0.91**	0.13	**0.98**	-0.03	0.42
GIMGM, %ms	-0.42	**0.06**	-0.40	0.10	-0.20	0.10	0.24	0.86
GIMLM, %ms	-1.17	**<0.01**	-0.57	**0.04**	-0.24	**0.08**	1.02	**>0.99**

[1] Abreviaciones en el texto. [2] P>0: Probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero.

Los efectos del SNP en *PLIN2* no fueron tan evidentes sobre el contenido graso. En este caso, si bien el alelo A incrementó GD120d (0.31 mm; P(>0)= 0.95) en G, no afectó GDC (-0.34 mm, P(>0)= 0.16). Este último resultado podría explicar porque el alelo A tiende a disminuir GIMGM (-0.20%; P(>0)= 0.10) y GIMLM (-0.24%; P(>0)= 0.08). Los resultados obtenidos indican que el SNP de *PLIN2* podría ser un marcador útil en Duroc para la mejora de los caracteres de crecimiento y canal a edades jóvenes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bosch, L. et al. 2012. Meat Sci. 91: 358-363. • Brasaemle, D. et al. 2000. J Biol Chem. 275: 38486-38493. • Davoli, R. et al. 2010. Mol Biol Rep 6: 419-440 • Gandolfi, G. et al. 2011. Meat Sci. 88: 631-637. • Greenberg, A. S. et al. 1991. J Biol Chem. 266: 11341-11346. • Kim, T. H. et al. 2005. J Anim Gen. 122: 240- 246. • Legarra, A. et al. 2008. Manual TM http://cat.toulouse.inra.fr/~alegarra/ • Qi, L. et al. 2004. Clin Gen. 66: 299-310 • Ros-Freixedes, R. et al. 2012. J Animal Sci. 90: 4230-4238. • Smith,B.J. 2005. http://www.public-health.uiowa.edu/boa/ • Tansey, J. T. et al. 2003. J Biol Chem. 278: 8401-6 • Tao, X. et al. 2008. Genet Sel Evol. 40: 215–226.

Agradecimientos: Proyecto financiado por el MICINN (AGL2009-09779). R.Ros-Freixedes es beneficiario de una beca de doctorado del MICINN (BES-2010-034607).

PERILIPIN-2 GENE POLYMORPHISM IS ASSOCIATED TO BODY WEIGHT IN DUROC PIGS

ABSTRACT: Perilipin (PLIN) family members are located in the membrane of lipid droplets and play a role regulating lipolysis. In this study a SNP in exon 2 of the *PLIN1* gene (*GU461315:G.184G>A*) and a SNP at the 3' UTR region of the *PLIN2* gene (*GU461317:G.98G>A*) were evaluated as candidates for an association analysis with growth and carcass traits in pigs. A total of 268 pedigree-referenced Duroc barrows were genotyped. No evidence of association was found for the SNP at *PLIN1* but the SNP at *PLIN2* proved to be consistently associated to growth and carcass traits, predominantly at earlier ages. In particular, allele A had a probability greater than 0.95 of having a positive additive effect on live body weight (2.0 kg) and backfat thickness (0.31 mm), as well as on carcass lean growth at 205d (0.90 kg) and ham weight (0.13 kg). By contrast, allele A is significantly associated to decrease the intramuscular fat content, both in the *gluteus medius* and *longissimus dorsi* muscles. Thus, It is concluded that the SNP *GU461317:G.98G>A* at *PLIN2* can be a potential useful marker for growth and carcass traits in Duroc.

Keywords*:* growth; meat quality; perilipin; pig.