ITEA (2004), Vol. **100A N.° 1**, 17-29

REVISIÓN SOBRE LA HERENCIA DEL COLOR DE LA CAPA EN GANADO BOVINO

L.J. Royo, I. Fernández, I. Álvarez, A. Rodríguez, F. Goyache

SERIDA-CENSYRA, c/ Camino de los Claveles 604,
33203 Gijón (Asturias), España
E-mail: fgoyache@serida.org

RESUMEN

El interés por el color de la capa en ganado bovino reside en su importancia para la formación y diferenciación de las razas y en la posible utilización de los genes responsables de la variación del color en estudios de diversidad. Se revisan los conocimientos existentes en relación con las bases genéticas de la determinación del color de la capa en ganado bovino respecto de los genes Extensión (Mc1r) y Agouti (ASIP) y de los patrones de manchado respecto de los genes KIT y MGF.

Palabras clave: Extension, Mc1r, Agouti, KIT, Ruano, Berrendo.

SUMMARY
INHERITANCE OF COAT COLOUR IN CATTLE. A REVIEW

Coat colour affects differentiation of populations into breeds. Additionally some authors proposed the use of the genes responsible of coat colour variation in diversity studies. In this work we review the knowledge on genes affecting coat colour (loci Extension or Mc1r and Agouti or ASIP) and spotting patterns (KIT and MGF).

Key words: Extension, Mc1r, Agouti, KIT, Roan, spotted.

Introducción

La variación del color de la capa en el ganado bovino, así como los patrones de manchado, ha suscitado un continuo interés de ganaderos y técnicos. La capa ha sido un elemento fundamental en la creación y diferenciación de las razas, afectando a la variabilidad genética de las poblaciones. En este sentido, diversos autores proponen la utilización de los genes responsables de la variación del color como marcadores de Tipo I en proyectos encaminados a la conservación de recursos genéticos animales en ganado bovino (KLUNGLAND *et al.*, 2000), y en la formación de grandes grupos poblacionales a partir de las razas bovinas existentes (ROUZAOUD *et al.*, 2000). El criterio de clasificar animales domésticos y razas por el color de la capa se mantiene vigente hoy en día y organismos internacionales como la FAO (http://www.tihohannover.de/einricht/zucht/eaap/sim_grp.htm) lo utilizan para definir 10 grandes grupos de razas bovinas: berrendo en negro, negro, berrendo en rojo, rojo, castaño, gris, azul, rubio, blanco y multicolor. Asimismo el estudio del color de la capa presenta interés científico en los casos en que pueda ser el resultado de importantes procesos adaptativos a medios difíciles (FINCH y WESTERN, 1977).

Por otra parte, el control de las variaciones del color de la capa presenta interés económico por diversas razones (OLSON, 1998): a) los animales de cebo que presentan determinados colores se sobrevaloran o penalizan en el precio de venta en ciertos mercados, sin tener en cuenta su raza o cruce; b) la presencia de manchas blancas en animales de razas de capa compacta impide su inclusión en los Libros Genealógicos correspondientes; c) puede afectar a la adaptabilidad productiva en condiciones de fuerte insolación como en el caso del porcentaje de blanco en ganado frisón respecto de la producción de leche (BECERRIL *et al.*, 1994); d) el color de la capa puede estar asociado a procesos patológicos como el *cancer eye* en ganado Hereford o la *white heifer disease* en raza Blanco Azul Belga (CHARLIER *et al.*, 1996).

OLSON (1998) revisa las mutaciones responsables del color y el berrendo en ganado bovino. En el primer caso, los *loci* de mayor importancia son el *Extension* (**E**) y el *Agouti* (**A**) (ADALSTEISSON *et al.*, 1995). El primero sería responsable del color negro-castaño-rojo y el segundo el responsable de la distribución de cada uno de esos colores en diferentes zonas de la piel del animal, especialmente en el vientre y bragadas. Además, señala la existencia del *locus Brindle* (**Br**) como responsable del fenotipo atigrado o rayón, del *locus Dun* (**Dn**) responsable del fenotipo de tipo podólico y dos *loci* responsables de la dilución del color muy presentes en las razas Charolesa (**Dc**) y Simmental (**Ds**). Como responsables del fenotipo berrendo señala el *locus Spotting* (**S**) (manchado) responsable del manchado típico de la mayor parte de las razas como Hereford, Pinzgauer o Holstein, el *Ruano* (**R**) propio de las razas Shorthorn y Blanco Azul Belga, los *loci Belting* (**Bt**), *Blaze* (**Bl**) y *Colour-sided* (**Cs**) responsables de los fenotipos *fajado* de la raza Galloway, de la estrella en la frente y del manchado irregular de las razas Berrenda en Negro, Berrendo en Colorado o White Park, respectivamente. También señala el *locus Brockling* (**Bc**) responsable de la presencia de pigmentación en las manchas blancas producidas por otras mutaciones. Sin embargo, la información disponible es, en general, escasa e imprecisa, y OLSON reconoce que algunas de las mutaciones señaladas podrían ser alelos de los *loci Extension* (**Dc**), *Agouti* (**Dn**) o *Ruano* (**Bc**).

Algunos autores no descartan que los colores de la capa, básicamente determinados por genes mayores, puedan estar parcialmente controlados por genes modificadores de efecto cuantitativo que regulan la proporción del color blanco en animales berrendos (BECERRIL *et al.*, 1994) o la proporción del color negro en animales de capa castaña (OLSON, 1998).

Bases de la pigmentación del ganado

La base del color en los mamíferos radica en la síntesis y distribución de una proteína, la melanina, en la piel, pelo y mucosas (SPONENBERG, 1997). La melanina se sintetiza en unas organelas de los melanocitos denominadas melanosomas, que se transfieren por exocitosis a los keratinocitos de la piel y a los bulbos pilosos donde se determinan los diferentes patrones de color. Existen dos clases de melanina: *eumelanina*, responsable de la coloración negra/castaña, y la *phaeomelanina*, responsable de la coloración roja/amarilla. La coloración de los mamíferos está determinada por la distribución de estos dos pigmentos, y la cantidad relativa de cada uno de ellos está controlada principalmente por dos *loci*: el *locus Extension* y el *locus Agouti* (HEARING y TSUKAMOTO, 1991; JACKSON, 1993). El *locus Exten-*

sion es el gen que codifica para el receptor de la hormona estimuladora de los melanocitos (MSHR, Mc1r). A este receptor pueden unirse dos tipos de ligandos: la hormona estimuladora de melanocitos (MSH) o la proteína antagonista, el producto del llamado *locus Agouti*. En cualquier caso, no es descartable la existencia de otros genes con efecto epistático sobre el color de la capa. En concreto, el gen de la tirosinasa 1 (TYRP1), conocido como *brown locus*, ha sido señalado como responsable de la dilución del color de la capa y de los fenotipos blancos con zonas coloreadas (CAMACHO-HÜBNER y BEERMANN, 2000; SCHMITZ *et al.*, 2001), aunque en principio no ha sido encontrada una gran diversidad alélica para este *locus*, al menos en buen número de razas bovinas europeas (MAUDET, 2002). Sin embargo, recientemente se ha identificado al gen TYRP1 como el gen Dun o brown locus, responsable de la decoloración de capas eumelánicas en bovino, aunque sólo se ha encontrado presente en la raza Dexter (BERRYERE *et al.*, 2003).

Los melanocitos derivan de la cresta neural en fases embrionarias tempranas, y deben migrar a través del embrión durante su desarrollo. El patrón de migración está controlado genéticamente (HEARING y TSUKAMOTO, 1991), y da como resultado diferentes patrones por distribuciones no uniformes de los melanocitos en la piel. La existencia de diferentes zonas del cuerpo del animal que no cuentan con melanocitos provoca ausencia de coloración y la existencia, por tanto, de manchas blancas. Los estudios realizados sobre la determinación genética del manchado en ganado bovino están menos avanzados que los relativos a los genes responsables de la producción de la melanina, por la dificultad de realizar un correcto fenotipado de los animales que permita diferenciar patrones de herencia. Sin embargo, a partir de estudios realizados en los genomas humano y de ratón, puede concluirse que en la determinación de las capas berrendas deben intervenir básicamente dos genes que controlan la migración de los melanocitos: el *locus* KIT (receptor tirosinkinasa) (GEISLER *et al.*, 1988) y su ligando el *locus* MGF (*Mast Cell Growth Factor*) o SLF (*steel factor*) (COPELAND *et al.*, 1990). El *locus* KIT sería el responsable del fenotipo berrendo, mientras que el *locus* MGF es el responsable del fenotipo ruano del ganado bovino (CHARLIER *et al.*, 1996; SEITZ *et al.*, 1999).

El *locus Extension* o Mc1r

La serie alélica del *locus Extension* es responsable de la diferenciación dentro de los bovinos de grandes grupos de razas. Diferentes alelos de ese gen produce animales de color negro compacto en piel y mucosas, berrendos o no, como en el caso de las razas Angus o Frisona, animales de capa y mucosas rubias, con una gran variedad en la intensidad del color desde el retinto de las razas Danesa Roja o Retinta a los rubios muy claros como en algunos animales de raza Guernesey o Rubia Gallega (de capa *marela*) y animales castaños, caracterizados por una distribución de diferentes combinaciones de pelos rojos y negros, con mucosas y extremos negros, y terneros colorados al nacimiento.

Las mutaciones en el *locus Extension* o Mc1r (receptor de la hormona estimuladora de los melanocitos) son responsables de diferentes fenotipos de color debido a que afectan a la funcionalidad del gen. Los alelos dominantes para el *locus Extension* incrementan el tipo de pigmentación de tipo *eumelánico* y, al contrario, los alelos recesi-

vos que bloquean el efecto de la *eumelanina,* favorecen la producción de pigmentación *phaeomelánica* o roja.

Para la localización del *locus Extension* en bovino se utilizó una estrategia de gen candidato. En los humanos el gen se localiza en la zona 16q24.3 y se conoce su secuencia completa (CHHALJLANI y WIKBERG, 1992). El gen ortólogo de ratón se localiza en el cromosoma 8 (MOUNTJOY *et al.*, 1992). El alineamiento de las secuencias de los genes humanos y de ratón permitió localizar en el cromosoma 18 el gen ortólogo bovino y descifrar la secuencia completa de su ADN codificante (Sec. BDF3, VANETTI *et al.*, 1994, KLUNGLAND *et al.*, 1995). La zona codificante completa del gen Mc1r bovino consta de un solo exón de 948 pb. (ROBBINS *et al.*, 1993, VANETTI *et al.*, 1994).

En bovinos, se han identificado diversos alelos de este gen (cuadro 1) en animales de diferentes razas europeas (KLUNGLAND *et al.*, 1995, JOERG *et al.*, 1996, GRAPHODATSKAYA *et al.*, 2000, KLUNGLAND *et al.*, 2000; ROUZAUD *et al.*, 2000, KRIEGESMANN *et al.*, 2001):

- **E^+**: alelo salvaje, propio de las razas de capa castaña, que permite la expresión del *locus Agouti.* La coloración de los animales homocigotos para este alelo depende del *locus Agouti.*
- **E^D (L99P)**: alelo con carácter dominante que conduce a una coloración negra, propia del ganado Frisón negro. Es una mutación que implica que el receptor esté constantemente activado, provocando la formación de *eumelanina* y, por lo tanto, color negro dominante (KLUNGLAND *et al.*, 1995).
- **e (310delG)**: alelo recesivo rojo, propio de razas rubias. Es una mutación en el receptor que lo mantiene constantemente inactivo, provocando la formación de *phaeomelanina*, y por lo tanto responsable del color rojo recesivo (JOERG *et al.*, 1996). Este alelo puede presentar otros polimorfismos que acompañan a la mutación causal dando lugar a diversos haplotipos: 410C_T (KRIEGESMANN *et al.*, 2001) y 274C_T (MAUDET, 2002) en raza Salers, 554A_T en raza Bazadaise (MAUDET, 2002).

Cuadro 1. Descripción de las variantes alélicas de mayor importancia del gen Mc1r encontradas en ganado bovino

Table 1. Description of the major allelic variants of locus Mc1r in cattle

Alelo	296	310	651	667
E^+	T	G	-	C
e	·	-	·	·
E^D	C	·	·	·
E^1	·	·	TGCCCGGGGCAT	·
E^2	·	·	·	T

(·) significa una base idéntica al alelo E^+.

(·) means the identity of the allele with the allele E^+.

(-) significa una deleción.

(-) means a deletion in this position.

- **E^1 (ARGI218-219ins)**: alelo dominante, causante del fenotipo de las capas típicas de la raza Gasconne y de capas más claras de la raza Aubrac. También se ha encontrado en raza Pardo Alpina (KRIEGESMANN *et al.*, 2001; GRAPHODATSKAYA *et al.*, 2000) y, en nuestro laboratorio, también se ha encontrado en animales del tronco castaño de razas Asturiana de los Valles y de la Montaña.

- **E^2 (R223W)**: alelo que se ha encontrado en las razas Pardo Alpina (GRAPHODATSKAYA *et al.*, 2000), y en nuestro laboratorio también se ha encontrado en animales del tronco castaño de las razas Tudanca, Asturiana de los Valles y de la Montaña.

Además de estos polimorfismos, MAUDET (2002) encuentra en raza Flamande otros posibles polimorfismos: H185Y, 603C_T, 754insT, lo que abundaría en la posibilidad de usar este locus en estudios de diversidad (KLUNGLAND *et al.*, 2000).

En ganado bovino existe el fenotipo atigrado que ha sido descrito en el ganado asturiano como *rayón* (SÁNCHEZ BELDA, 1982) que coincidiría con el *locus Brindle* (**Br**). La existencia de variantes *Agoutí* del fenotipo rayón (*en verdugo* y *en morcillo*) ha permitido sostener la hipótesis de que el locus **Br** podría ser una variante alélica del *locus Extension* (OLSON, 1988). De esta manera, se ha asociado la presencia de estos patrones atigrados a alelos parcialmente recesivos del locus extensión en cobayas (IBSEN, 1919; CHASE 1939) y conejos (PUNNET, 1924). Sin embargo, al menos en raza Highland se han descrito fenotipos rayones en animales con genotipos E^+/E^+ y E^+/e (SCHMUTZ, comunicación personal). Asimismo, en raza Normanda, que presenta animales rayones en alta frecuencia, ROUZAUD *et al.*, (2000) sólo encontraron genotipos E^+/E^+. Los *loci* responsables de la dilución del color (**Dc** y **Ds**) pueden tener una determinación similar a capas descritas en cánidos (NEWTON *et al.*, 2000).

El *locus Agouti* o ASIP

El producto del gen *Agouti* es uno de los ligandos del receptor de la hormona estimuladora de melanocitos, con actividad antagonista a la MSH. El gen *Agouti* se extiende a lo largo de 18 kb. del cromosoma 13 bovino. La zona codificante se encuentra dividida en 4 exones, con tamaños comprendidos entre 65 y 385 pb.

En ganado bovino se ha propuesto la existencia de, al menos, cuatro alelos para el gen *Agouti* (OLSON, 1998):

- **A^+**: el gen salvaje que produce un fenotipo castaño, más o menos oscuro y de mayor o menor extensión dependiendo del sexo del animal. Permite la expresión del alelo **E^+**. Presente en razas de capas castañas.

- **A^{bp}**: provoca la aparición de un fenotipo casi enteramente negro no influenciado por el sexo. Dominante en presencia de **E^+** e hipostático en presencia de **E^D**. Propio de razas como la Avileña o Frisona.

- **a^w**: alelo recesivo que provoca una distribución uniforme del pigmento negro, por remoción del pigmento rojo y parcialmente del negro. Propio de la raza Pardo Alpina.

- **a^i**: alelo recesivo que provoca la remoción del color negro y la decoloración del rojo, sobre todo en el vientre y bragadas. Puede estar presente en razas como la Jersey o las Asturianas.

En cualquier caso, se puede suponer la existencia de un mayor número de alelos del gen *Agouti*, posiblemente interactuando con alelos del *locus Extension* como el $\mathbf{E^1}$, $\mathbf{E^+}$ y/o $\mathbf{E^2}$. En ratón se encuentran ejemplos de diferentes capas asociadas a mutaciones en el gen *Agouti* (BULTMAN *et al.*, 1992; ZHENG *et al.*, 1999). La acción del *locus Agouti* puede estar implicada en la existencia de tonos diferentes en las capas castañas y de rojo en animales homocigotos para el alelo **e** del *locus Extension* (ROUZAUD *et al.*, 2000). En este sentido no sería descartable la existencia de un efecto epistático del *locus Agouti* con el gen TYRP1, aunque los estudios realizados en razas europeas de ganado bovino no parecen apoyar esta hipótesis (MAUDET, 2002). Sin embargo, en un trabajo reciente se ha puesto de manifiesto que, tras muestrear un importante número de razas con fenotipo salvaje y genotipo conocido para el locus Extension, no existe variación alguna en la secuencia codificante del gen Agouti (ROYO *et al.*, 2004).

También se han descrito efectos pleiotrópicos asociados a alelos de este gen, como la obesidad o la diabetes (BULTMAN *et al.*, 1992), fundamentalmente debido a mutaciones dominantes que inducen expresión ectópica en tejido nervioso, uniéndose a los receptores de melanocortina 3 y 4 (Mc3-r, Mc4-r) en el hipotálamo, lo que provocaría una hiperfagia inducida por la proteína *agouti*. Además, el gen *agouti* fue el primer gen clonado relacionado con la obesidad (BULTMAN *et al.*, 1991). Tiene efecto sobre el metabolismo del adipocito, funcionando como un regulador autocrino de la leptina (el producto del gen *obese, ob*), lo que da lugar al primer indicio de regulación de un gen de la obesidad por medio de otro gen de la obesidad, sugiriendo que la interacción entre estos genes puede tener un importante papel en los síndromes de obesidad (CLAYCOMBE *et al.*, 2000).

El *locus Spotting* o KIT

El *locus* KIT se compone de una secuencia de ADN codificante de 3069 pb. (D16680, KUBOTA *et al.*, 1994), dividida en 21 exones que comprenden aproximadamente 70 kb. de ADN genómico. Tradicionalmente se han descrito cuatro alelos asociados a la presencia de manchas blancas en el cuerpo del ganado bovino (OLSON, 1998):

- $\mathbf{S^+}$: el gen salvaje que regularía la no existencia de manchas, al menos en homocigosis. Se encontraría en las razas bovinas de color compacto.
- $\mathbf{S^H}$: alelo con dominancia incompleta que provoca el patrón de manchado propio de la raza Hereford.
- $\mathbf{S^P}$: alelo con dominancia incompleta que provoca el patrón de manchado propio de la raza Pinzgauer.
- **s**: alelo recesivo que provoca el manchado típico de la raza Frisona. La extensión del blanco es variable. Puede ser responsable del fenotipo de mínimo manchado de las razas de colores compactos.

En bovino, se ha puesto de manifiesto la existencia de un QTL del grado de manchado en el cromosoma 6 (REINSCH *et al.*, 1999). Esta es la región donde se encuentra el *locus* KIT, homóloga a la zona donde mapea el mismo *locus* en humano y ratón. Mutaciones en el gen KIT provocan la aparición de fenotipos similares a la capa berrenda en bovino y además la región muestra sinténia con el QTL que afecta al grado de manchado. Esto convierte al gen KIT en un candidato para la presencia del carácter berrendo en bovino. Se ha descrito un polimorfismo neutro (OLSEN *et al.*, 2000) en el gen bovino que, sin embargo, no parece estar asociado con la presencia de man-

chas. KLUNGLAND *et al.* (2000) sugieren que puede ser un alelo del *locus* KIT diferente en cada raza o población el que provoca los diferentes fenotipos de manchado aunque no puede descartarse un fenotipado deficiente de los animales estudiados.

Se trata de un gen complejo que puede tener una acción pleiotrópica en caracteres productivos como la producción lechera (BECERRIL *et al.*, 1993) o procesos patológicos (NAGATA *et al.*, 1995, GIEBEL y SPRITZ, 1991, LONGLEY *et al.*, 1999). No es descartable que diversos alelos del *locus* KIT sean responsables de los fenotipos del *fajado* de la raza Galloway (**Bt**), del manchado irregular (**Cs**) o del manchado típico de la raza Normanda (**Bc**), bien por sí mismos o interactuando con diversos alelos de su ligando, el *locus Ruano*. La presencia de estrella en la frente se hereda de forma independiente del manchado, lo que indica la existencia de un segundo *locus* implicado en los fenotipos de manchado irregular (ROBINSON, 1998).

El *locus Ruano* o MGF

El *locus Ruano* (*roan*) está asociado a la aparición de una capa típica de las razas Blanco Azul Belga y Shorthorn. Análisis de ligamiento en familias de la raza Blanco-Azul Belga (CHARLIER *et al.*, 1996) localizaron el locus Ruano en el cromosoma 5. La misma mutación en su secuencia codificante, provoca la aparición del fenotipo *Ruano* en las razas Blanco-Azul belga y Shorthorn (SEITZ *et al.*, 1999).

Sólo se han descrito dos alelos codominantes en este *locus*:

- **r**: que sería el alelo salvaje, normalmente presente en razas de colores compactos.
- **R**: en heterocigosis con el alelo salvaje, alelo responsable del fenotipo ruano, caracterizado por una mezcla de pelos pigmentados y despigmentados. En homocigosis, produce un fenotipo casi completamente blanco, excepto en los bordes de las orejas.

El *locus ruano* es el ligando del *locus* KIT. Este gen ha recibido atención por su efecto pleiotrópico sobre la fertilidad (CHARLIER *et al.*, 1996) en la denominada *white heifer disease* presente en la raza Blanco Azul Belga. La secuencia del ADN codificante del *locus ruano* bovino está interrumpida en 9 exones (ZHOU *et al.*, 1994). A partir de los límites conocidos de los exones dentro del ADN codificante, se diseñaron oligos para amplificar los 9 exones a partir de ADN genómico (SEITZ *et al.*, 1999). El *locus ruano* parece tener diversas funciones que se expresan en los diferentes nombres que recibe: KL (KIT *ligand*), SLF (*steel factor*), SCF (*stem cell factor*), MGF (*Mast Cell Growth Factor*).

El *locus ruano* está poco estudiado y su interacción con el *locus* KIT no está suficientemente aclarada. La determinación de otros alelos que pueda presentar este *locus*, conduciría a una definición más clara de los diferentes patrones del fenotipo berrendo en ganado bovino. Además, puede mejorar el conocimiento de los QTL que intervienen en la producción lechera.

Discusión

Teniendo en cuenta las bases moleculares de la pigmentación, resulta sencillo establecer algunas reglas generales en las diferentes especies de animales domésticos en relación a las capas de color compacto:

Los patrones *eumelánicos* dominantes aparecen como consecuencia de mutaciones en el gen Mc1r que lo mantienen constitutivamente activado. El estudio de las características de la proteína sugiere que los polimorfismos que afectan al segundo y tercer domino transmembrana, provocan este tipo de mutaciones dominantes. Así por ejemplo, los alelos del gen Mc1r con polimorfismos en estos dominios, dan lugar a individuos de capa negra en ratón (ROBBINS *et al.*, 1993), raza frisona en bóvidos (KLUNGLAND *et al.*, 1995), razas Meishan, LargeBlack y Hampshire de cerdos (KIJAS *et al.*, 1998), ovejas (VÅGE *et al.*, 1999) y perros (NEWTON *et al.*, 2000). Sin embargo, también pueden encontrarse patrones de tipo *eumelánico* con carácter recesivo asociadas a alelos de tipo salvaje en el gen Mc1r que aparecen por mutaciones disruptivas en el gen *Agouti*. En este caso, el incremento de función de la síntesis de *eumelanina* es debido a la pérdida de función de la proteína antagonista del receptor Mc1r. Este es el caso del color negro recesivo descrito en diversas razas de caballos (RIEDER *et al.*, 2001), líneas de ratón (BULTMAN *et al.*, 1992) y en el zorro (VÅGE *et al*, 1997).

De modo análogo, los patrones *phaeomelánicos* recesivos vendrán acompañados de polimorfismos que produzcan alelos con pérdida de función del receptor Mc1r, como en el caso de las mutaciones disruptivas descritas en el *locus Extension*. Así, encontramos patrones *phaeomelánicos* (capas coloradas o amarillentas) en las razas bovinas Frisona, Salers, Retinta, Rubia Gallega (JOERG *et al.* 1996), razas caninas Golden, Labrador y Seter irlandés (NEWTON *et al.*, 2000), caballos alazanes (MARKLUND *et al.*, 1996; RIEDER *et al.*, 2001) y en la raza porcina Duroc (KIJAS *et al.*, 1998). También se han descrito alelos de este tipo en el zorro rojo (ADALSTEINSON *et al.*, 1987). Desde un punto de vista teórico podría pensarse en la existencia de un patrón *phaeomelánico* de tipo dominante. Esto sería posible si existiera una mutación que provocara una ganancia de función en el gen *Agouti* asociada a un alelo salvaje del gen Mc1r. Sin embargo, hasta el momento no se han descrito este tipo de patrones en el ganado.

Como ya se ha dicho, los patrones de manchado o berrendo responden a la migración diferencial de los melanocitos desde la cresta neural. Se han descrito fenotipos de despigmentación asociados a mutaciones en la secuencia del gen KIT (receptor tirosin-kinasa), tanto en humanos (FLEISCHMAN *et al.*, 1991, GIEBEL y SPRITZ, 1991), como en ratón (GEISLER *et al.*, 1988) y cerdos (MOLLER *et al.*, 1996, GIUFRA *et al.*, 1999). El fenotipo blanco dominante típico de las denominadas razas de cerdo blanco (Yorkshire, Landrace, y Large White) está causado por una mutación en el gen KIT, que afecta a la migración de los melanocitos, ya que éstos no se encuentran en la piel de estos animales (MOLLER *et al.*, 1996).

Los genes KIT y su ligando MGF actúan sobre el crecimiento y diferenciación de los melanocitos, células hematopoyéticas, y germinales. Por lo tanto, mutaciones en estos genes estarán asociadas con desordenes pigmentarios, anemia, esterilidad e incluso con letalidad recesiva. El gran número de mutaciones descritas en el *locus* KIT en ratones, se pueden dividir en dos grandes grupos: a) estructurales, que provocan la aparición de un receptor con baja o nula actividad tirosinasa, y b) reguladoras, que dan lugar a alteraciones en la expresión del gen. Los individuos portadores de mutaciones reguladoras son, normalmente, viables y se caracterizan por presentar defectos de pigmentación. También en ratones se ha descrito una mutación que afecta a la expresión específica de tejido del gen KIT, en la

Cuadro 2. Número de individuos (N) y frecuencias alélicas encontradas en el locus Extensión (Mc1r) de diversas razas bovinas europeas

Table 2. Number of individuals and allelic frequencies for the Extension locus (Mc1r) in European cattle breeds

Capa	N	E^+	e	E^D	E^1	E^2
Abondance[1]	32		1,00			
Asturiana de los Valles[3]	62	0,13	0,4		0,13	0,7
Asturiana de la Montaña[3]	36	0,08	0,03		0,04	0,85
Aubrac[4]	74	0,22				0,78
Bazadaise[1]*	4		1,00			
Blanc Bleu[1]	3	1,00				
Bleue du Nord[1]	3	1,00				
Blonde d'Aquitaine[4]	33		1,00			
Cabannia[1]	3	0,50			0,50	
Charolais[4]	33		1,00			
Chiania[1]	5	0,40	0,40			0,20
Gasconne[2]	64	0,46			0,54	
Holstein[4]	119			1,00		
Limousine[4]	48		1,00			
Maine Anjou[1]	32		1,00			
Marchigiana[1]	5					1,00
Maremmana[1]	5					1,00
Montbéliarde[1]	6		1,00			
Normande[4]	81	1,00				
Pajuna[3]	30	0,40	0,05		0,05	0,50
Parda Alpina[3]	18	0,72			0,20	0,08
Parthenaise[1]	4	0,13			0,87	
Pezzata Rossa[1]	5		1,00			
Piemontese[1]	5					1,00
Rendena[1]	5		1,00			
Salers[4]*	62		1,00			
Simmental[1]	6		1,00			
Tarentaise[1]	32	0,05			0,95	
Tudanca[3]	31					1,00
Valdaostana Rossa[1]	5					1,00
Villard de Lans[1]	15		1,00			
Vosgienne[1]	8			1,00		

(1) MAUDET (2002).

(2) ROZAUD *et al.* (2000).

(3) ROYO *et al.* (2003a).

(4) estimado a partir de la suma de animales genotipados por MAUDET (2002) y ROUZAUD *et al.* (2000) en esas razas.

(4) estimated by summing up the animals genotyped by MAUDET (2002) y ROUZAUD et al. (2000) in these breeds.

(*) Suma de los haplotipos del alelo e descritos por MAUDET (2002) en esa raza.

(*) Includes all the haplotypes described for MAUDET (2002) for the allele e in this breed.

que las secuencias codificantes no están alteradas, y que por lo tanto debe estar en alguna región de control del promotor del gen (DUTTLINGER *et al.*, 1995). De forma análoga, el fenotipo fajado de típico de la raza de cerdos Hampshire, estará asociado a una mutación reguladora del gen KIT, aunque la mutación causal concreta no ha sido identificada (GIUFFRA *et al.*, 1999). Posiblemente la causa del fenotipo fajado en las razas bovinas Belted Galloway y Dutch Belted, haya que buscarla en las regiones reguladoras del gen KIT. El fenotipo blanco dominante en los cerdos está asociado a una duplicación de un fragmento cromosómico que afecta al gen KIT completo y a una mutación que lleva consigo un fenómeno de procesamiento alternativo, lo que provoca la falta de un exón en el transcrito del gen KIT (MARKLUND *et al.*, 1998). Otros autores han comprobado posteriormente la existencia de toda una serie de mutaciones en el gen KIT que también se asocian a fenotipos blancos en ganado porcino (PIELBERG *et al.*, 2002). En ese sentido, llama la atención la alta diversidad alélica del gen KIT en los porcinos domésticos. En otras especies se ha propuesto al *locus* KIT como gen candidato responsable de los fenotipos ruano y pío en caballos (MARKLUND *et al.*, 1999); sin embargo, se le ha descartado como gen candidato del fenotipo manchado en la raza de perros Border Collies (METALLINOS y RINE, 2000).

Conclusiones

Las bases genéticas de la variación del color de la capa en ganado bovino no se encuentran totalmente esclarecidas. Su utilización en programas nacionales o internacionales de conservación de la variabilidad genética se ve comprometida por la dificultad de diferenciar fenotipos muy próximos que pueden, en algunos casos, estar determinados por alelos o combinaciones alélicas singulares, y que merecerían ser conservadas por sí mismas (KLUNGLAND *et al.*, 2000). No es descartable que diversas combinaciones de los genes responsables de la variación del color interactúen para dar lugar a fenotipos específicos, a veces muy próximos y difícilmente distinguibles. Incluso, es posible encontrar intensidades diferentes de color rojo en animales homocigotos recesivos para el *locus Extension*, lo que llevaría a pensar que el receptor de la hormona estimuladora de los melanocitos, en principio alterado, podría conservar cierta funcionalidad, y que los productos del gen *Agouti*, o de otros genes relacionados, pudieran modificar el fenotipo *phaeomelánico* (ROUZAOUD *et al.*, 2000), o bien que estas diferentes intensidades sean el reflejo de alteraciones en los elementos reguladores en *cis*, que harían que alelos inactivos del gen Mc1r se expresen más o menos y, por lo tanto, den lugar a cantidades diferentes de *phaeomelanina*.

El estudio e identificación de los posibles alelos de los genes responsables del manchado KIT y ruano, ayudará a conocer el grado de introgresión de razas con patrones de manchado en razas con patrones sólidos de color, como por ejemplo de la raza frisona en gran parte de los animales de las razas autóctonas de la cordillera cantábrica.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Plan de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación (I+D+I) de Asturias 2001-2004, mediante el proyecto PC-REC01-01.

Bibliografía

ADALSTEISSON S., BJARNADOTTIR S., VÅGE D.I., JONMUNDSSON J.V., 1995. Brown coat color in Icelandic cattle produced by the loci Extensión and Agouti. J Hered 86: 395-398.

BECERRIL C.M., WILCOX C.J., LAWLOR T.J. WIGGANS G.R., WEBB D.W., 1993. Effects of Percentage of White Coat Color on Holstein Production and Reproduction in a Subtropical Environment. J. Diary Science, 76: 2286-2291.

BECERRIL C.M., WILCOX C.J., WIGGINS G.R., SIGMON K.N., 1994. Transformation of measurements of percentage of white coat colour for Holsteins and estimation of heritability. J. Dairy Sci. 77: 2651-2657.

BERRYERE T.G., SCHMUTZ S.M., SCHIMPF R.J., COWAN C.M., POTTER J., 2003. TYRP1 is associated with dun coat colour in Dexter cattle or how now brown cow? Animal Genetics, 34: 169-175.

BULTMAN S.J., RUSSELL L.B., GUTIERREZ-ESPELETA G.A., WOYCHICK R.P., 1991. Molecular characterization of a region of DNA associated with mutations at the agouti locus in the mouse. PNAS USA., 88: 8062-8066.

BULTMAN S.J., MICHAUD E.J., WOYCHICK R.P., 1992. Molecular characterization of the mouse agouti locus Cell 71: 1195-1204.

CAMACHO-HÜBNER A., BEERMANN F., 2000. Caractéristiques cellulaires et moléculaires de la pigmentation chez les mammifères – tyrosynase et TRP. Pathol Biol, 48: 577-583.

CHARLIER C., DENYS B., BELANCHE J.I., COPPIETERS W., GROBET L., MNI M., WOMACK J., AHNSET R., GEORGES M., 1996. Microsatellite mapping of the bovine roan locus: a major determinant for white heifer disease. Mammalian Genome, 7: 138-142.

CHASE H.B., 1939. Studies onthe tricolor pattern of the guinea-pig. II. The distribution of black and yellow as affected by white spotting and by imperfect dominance in the tortoiseshell series of alleles. Genetics, 24: 610-643.

CHHALJLANI V., WIKBERG J.E., 1992. Molecular cloning and expression of the human melanocyte stimulating hormone receptor cDNA. FEBS Lett., 309: 417-420.

CLAYCOMBE K.J., XUE B.Z., MYNATT R.L., ZEMEL M.B., MOUSTAID-MOUSSA N., 2000. Regulation of leptin by agouti. Physiol Genomics, 2: 101-105.

COPELAND N.G., GILBERT D.J., CHO B.C., DONOVAN P.J., JENKINS N.A., COSMAN D., ANDERSON D., LYMAN S.D., WILLIAMS D.E., 1990. Mast cell growth factor maps near the steel locus on mouse chromosome 10 and is deleted in a number os steel alleles. Cell, 63: 175-183.

DUTTLINGER R., MANOVA K., BERROZPE G., CHU T.Y., DELEON V., TIMOKHINA I., CHAGANTI R.S.K., ZELENETZ A.D., BACHVAROVA R.F., BESMER P., 1995. The *W*^{sh} and *Ph* m,utations affect the *c-kit* expression profile: *c-kit* misexpression in embryogenesis impairs melanogenesis in *W*^{sh} and *Ph* mutant mice. PNAS USA, 92: 3754-3758.

FINCH V.A., WESTERN D., 1977. Cattle colours in pastoral herds: natural selection or social preference. Ecology, 58: 1384-1393.

FLEISCHMAN R.A., SALTMAN D.L., STASTNY V., ZNEIMER S., 1991. Deletion of the c-kit Protooncogene in the Human Developmental Defect Piebald Trait. PNAS, 88: 10885-10889.

GEISSLER E.D., CHENG S.V., GUSELLA J.F., HOUSMAN D.E., 1988. Genetic analysis of the dominant white-spotting (W) region on mouse chromosome 5: identification of cloned DNA markers near W. PNAS, 85: 9635-9639.

GIEBEL L.B., SPRITZ RA., 1991. Mutation of the KIT (Mast/Stem Cell Growth Factor Receptor) Protooncogene in Human Piebaldism. PNAS 88: 8696-8699.

GIUFFRA E., EVANS G., TÖRNSTEN A., WALES R., DAY A., LOOFT H., PLASTOW G., ANDERSSON L., 1999. The belt mutation in pigs is an allele at the dominant white (I/KIT) locus. Mammalian Genome, 10: 1132-1136.

GRAPHODATSKAYA D., JOERG H., STRANZINGER G.F., 2000. Polymorphism in the MSHR gene of different cattle breeds. Veterinarni-Medicina Czech 45: 290-295.

HEARING V.J., TSUKAMOTO K., 1991. Enzymatic control of pigmentation in mammals. FASEB Journal, 5: 2902-2909.

IBSEN H.L., 1919. Tricolor inheritance. IV. The triple allelomorphic series in guinea-pigs. Genetics, 4: 597-606.

JACKSON I.J., 1993. Molecular genetics. Color-Coded switches. Nature, 362: 587-588.

JOERG H., FRIES H.R., MEIJERINK STRANZINGER G.F., 1996. Red coat colour in holstein cattle is associated with a deletion in the MSHR gene. Mammalian Genome 7: 317-318).

KIJAS J.M.H., WALES R., TÖRNSTEN A., CHARDON P., MOLLER M., ANDERSSON L., 1998. Melanocortin receptor 1 (MC1R) mutations and coat color in pigs. Genetics, 150: 1177-1185.

KLUNGLAND H., VÅGE D.I., GOMEZ-RAYA L., ADALSTEINSSON S., LIEN S., 1995. The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. Mammalian Genome 6: 636-639.

KLUNGLAND H., OLSEN H.G., HASSANANE M.S., MAHROUS K., VÅGE D.I., 2000. Coat colour genes in diversity studies. J Anim Breed Genet, 117: 217-224.

KRIEGESMANN B., DIERKES B., LEEB T., JANSEN S., BRENIG B., 2001. Two breed-specific bovine Mc1-r alleles in brown swiss and salers breeds. J. Dairy Sci., 84:1768-1771).

KUBOTA T., HIKONO H., SASAKI E., SAKURAI M., 1994. Sequence of a bovine c-kit proto-oncogene cDNA Gene, 141: 305-306.

LONGLEY B.J., METCALFE D.D., THARP M., WANG X., TYRRELL L., LU S., HEITJAN D., MA Y., 1999. Activating and dominant inactivating c-*KIT* catalytic domain mutations in distinct clinical forms of human mastocytosis. PNAS 96: 1609-1614.

MARKLUND S., KIJAS J., RODRIGUEZ-MARTINEZ H., RONNSTRAND L., FUNA K., MOLLER M., LANGE D., EDFORS-LILJA I., ANDERSSON L., 1998. Molecular basis for the dominant white phenotype in the domestic pig. Genome Research, 8: 826-833.

MARKLUND S., MOLLER M., SANDBERG K., ANDERSSON L., 1999. Close association between sequence polymorphism in the KIT gene and the roan coat color in horses. Mammalian Genome, 10: 283-288.

MAUDET C., TABERLET P., 2002. Holstein milk detection in cheeses inferred from melanocortin receptor 1 (Mc1r) gene polymorphism. J. Dairy Sci, 85: 707-715.

METALLINOS D., RINE J., 2000. Exclusion of EDNRB and KIT as the basis for white spotting in Border Collies. Genome Biology, 1: 41-44.

MOLLER M.J., CHAUDHARY R., HELLMEN E., HOYHEIM B., CHOWDHARY B., ANDERSSON L., 1996. Pigs with the dominant white coat color phenotype carry a duplication of the KIT gene encoding the mast/stem cell growth factor receptor, Mammalian Genome, 7: 822-830.

MOUNTJOY K.G., ROBBINS L.S., MORTRUD M.T., CONE R.D., 1992. The cloning of a family of genes thet encode the melanocortin receptors. Science, 257: 1248-1251.

NAGATA H., WOROBEC A.S., OH C.K., CHOWDHURY B.A., TANNENBAUM S., SUZUKI Y., METCALFE D.D., 1995. Identification of a point mutation in the catalytic domain of the protooncogene c-kit in peripheral blood monuclear celles of patients who have mastocytosis with an associated hematologic disoder PNAS, 92: 10560-10564.

NEWTON J.M., WIKKIE A.L., HE L., JORDAN S.A., METALLINOS D.L., HOLMES N.G., JACKSON I.J., BARSH G.S., 2000. Melanocortin 1 receptor variation in the domestic dog. Mammalian Genome, 11: 24-30.

OLSEN H.G., VÅGE D.I., LIEN S., KLUNGLAND H., 2000. A DNA polymorphism in the bovine c-kit gene. Anim. Genet., 31:71.

OLSON T.A., 1998. Genetics of colour variation. En Fries y Ruvinsky Eds., The Genetics of Cattle, 33-53.

PIELBERG G., OLSSON, C., SYVÄNEN A.C., ANDERSSON L., 2002. Unexpectedly high allelic diversity at the KIT locus causing dominant white color in the domestic pig. Genetics, 160: 305-311.

PUNNET R.C., 1924. On the japanese rabbit. J. Genet., 14: 230-240.

REINSCH N., THOMSEN H., XU N., BRINK M., LOOFT C., KALM E., BROCKMANN G.A., GRUPE S., KUHN C., SCHWERIN M., LEYHE B., HIENDLEIDER S., ERHARDT G., MEDJUGORAC I., RUSS I., FORSTER M., REENTS R., AVERDUNK G., 1999. A QTL for the degree of spotting in cattle shows synteny with the KIT locus on chromosome 6. J. Hered., 90: 629-634.

RIEDER S., TAOURIT S., MARJAT D., LANGLOIS B., GUÉRIN G., 2001. Mutations in the agouti (*ASIP*), the extension (*MC1R*) and the brown (*TYRP1*) loci and their assocciation to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*). Mammalian Genome, 12: 450-455.

ROBBINS L.S., NADEAU J.H., JOSON K.R., KELLY M.A., ROSLLI-REHFUSS L., BAACK E., MOUNTJOY K.G.,

CONE R.D., 1993. Pigmentation phenotypes of variant extension locus alleses result from point mutations that alter MSH receptor function. Cell. 72: 827-834.

ROBINSON R., 1998. Head spot and dilute mutations in the norway rat, J. Hered., 89: 100-101.

ROUZAUD F., MARTIN J., GALLET P.F., DELOURME D., GOULEMOT-LEGER V., AMIGUES Y., MENISSIER F., LEVEZIEL H., JULIEN R., OULMOUDEN A., 2000. A first genotyping French cattle breeds based on a new allele of the extension gene encoding the melanocortin-1 receptor (MC1R). Genet. Sel. Evol., 32: 511-520.

ROYO L.J., ÁLVAREZ I., LUQUE A.J., FERNÁNDEZ I., DE ARGÜELLO S., MOLINA A., ROBLES M., GOYACHE F., 2003. Genotipado del locus Extension (Mc1r) en cinco razas bovinas españolas de capa castaña. ITEA, 24Vol. Extra II: 501-503.

ROYO L.J., ÁLVAREZ I., FERNÁNDEZ I., ARRANZ J.J., GÓMEZ E., GOYACHE F., 2004. Short communication: Agouti variation within wild-type coat color in cattle is not dependent on changes in the coding sequence of the ASIP gene. J. Dairy Sci., enviado para publicación.

SÁNCHEZ BELDA A., 1982. Razas de ganado bovino de España, Ediciones de Extensión Agraria, Madrid.

SCHMIDTZ B.H., BUCHANAN F.C., PLANTE Y., SCHMUTZ S.M., 2001 Linkage mapping of the tyrosinase gene to bovine chromosome 29. Anim. Genet. 32: 119-120.

SEITZ J.J., SCHMUTZ S.M., THUE T.D., BBUCHANAN F.C., 1999. A missense mutation in the bovine MGF gene is associated with the roan phenotype in Belgian Blue and Shorthorn Cattle. Mamm. Genome, 10: 710-712.

SPONENEBERG D.P., 1997. Genetic of colour and hair texture. En Piper y Ruvinsky Eds., The Genetics of Sheep, 51-86.

VÅGE D.I., LU D., KLUNGLAND H., LIEN S., ADALSTEINSSON S., CONE R.D., 1997. A non-epistatic interaction of agouti and extension in the fox, Vulpes vulpes. Nature Genetics, 15: 311-315.

VÅGE D.I., KLUNGLAND H., LU D., CONE R.D., 1999. Molecular and pharmacological characterization of dominant black coat color in sheep. Mammalian Genome, 10: 39-43.

VANETTI M., SCHONROCK C., MEYERHOF, W., HOLLT, V., 1994. Molecular cloning of a bovine MSH receptor which is highly expressed in the testis. FEBS Lett, 348: 268-272.

ZHENG B., MILLS A.A, BRADLEY A., 1999. A system for rapid generation of coat color-tagged knockouts and defined chromosomal rearrangements in mice. Nucleic Acids Research, 27: 2354-2360.

ZHOU J-H., HIKONO H., OHTAKI M., KUBOTA T., SAKURAI M., 1994. Cloning and characterization of cDNAs encoding two normal isoforms of bovine stem cell factor. Biochim. Biophys Acta, 1223: 148-151.

Aceptado para publicación el 22 de enero de 2004).