GENOTIPADO DEL LOCUS EXTENSION (Mc1r) EN CINCO RAZAS BOVINAS ESPAÑOLAS DE CAPA CASTAÑA

L.J. Royo[1], I. Álvarez[1], A.J. Luque[2], I. Fernández[1], S. de Argüello[3], A. Molina[4] M. Robles[5] y F. Goyache[1*]

[1]SERIDA-CENSYRA-Somió, C/ Camino de los Claveles 604, 33203 Gijón (Asturias); [2]Asociación Nacional de Criadores de Raza Pajuna, Partido Rural de Sigüela s/n, Apto. 159, 29400 Ronda, (Málaga); [3]CENSYRA, Sierrapando s/n, 39300-Torrelavega (Cantabria); [4]Departamento de Genética de la Universidad de Córdoba, Ctra. Madrid-Córdoba, km. 373a., 14071-Córdoba; [5]Asociación Nacional de Criadores de Raza Parda Alpina, Avda. de la Facultad de Veterinaria, 24193, León; *e-mail: fgoyache@serida.org

INTRODUCCIÓN

Las mutaciones en el *locus Extension* o Mc1r (receptor de la hormona estimuladora de los melanocitos) son responsables de diferentes fenotipos de coloración. Los alelos dominantes para el *locus Extension* incrementan el tipo de pigmentación de tipo *eumelánico*; y al contrario, alelos recesivos que bloquean el efecto de la eumelanina, favorecen la producción de pigmentación *phaeomelánica* o roja. El locus Extension se localiza en el cromosoma 18 bovino, y se conoce 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 está contenida en un solo exón y consta de 948 pb. (VANETTI et al., 1994).

En bovinos se han identificado diversos alelos de este gen, en animales de diferentes razas europeas (KLUNGLAND et al., 1995; JOERG et al., 1996; GRAPHODATSKAYA 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 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.
- **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. Se han descrito algunos polimorfismos en este alelo que acompañan a la mutación causal dando lugar a diversos haplotipos (KRIEGESMANN et al., 2001).
- E^1 (ARGI218-219ins): alelo causante del fenotipo de las capas castañas claras, también descrito en Pardo Alpina.
- E^2 (R223W): alelo que se ha encontrado en la raza Pardo Alpina, sin asociación a ningún fenotipo.

El objetivo de la presente comunicación es realizar un genotipado preliminar de los alelos del *locus Extension* descritos en la bibliografía en 5 razas bovinas españolas

de capa castaña en el marco del proyecto PC-REC01-01, financiado por el III Plan Regional de I+D+I del Gobierno del Principado de Asturias, y de los proyectos RZ00-008 y RZ02-007 financiados por el MCyT-INIA dentro de la Acción Especial de Conservación de Recursos Genéticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han genotipado para el locus Extension animales no emparentados de 5 razas bovinas españolas de capa castaña: 62 animales de raza Asturiana de los Valles, 36 de raza Asturiana de la Montaña, 30 de raza Pajuna, 18 de raza Parda Alpina y 31 de raza Tudanca. Estos animales fueron genotipados para la presencia de los alelos $\mathbf{E^+}$, $\mathbf{E^1}$, $\mathbf{E^2}$ y **e**, mediante los protocolos de PCR-RFLP descritos por GRAPHODATSKAYA et al. (2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se exponen los resultados del genotipado. El alelo más frecuente en todas las razas, excepto la Parda Alpina, es el $\mathbf{E^2}$, con frecuencias que oscilan entre el 50% en raza Pajuna y el 92% en raza Tudanca. En la Parda Alpina el alelo más frecuente es el salvaje (72%). Este alelo es el segundo más frecuente en raza Pajuna (40%) y se encuentra representado en aproximadamente un 10% en las tres razas castañas cantábricas. En las dos razas asturianas y la Pajuna se encuentra el alelo recesivo **e** en baja frecuencia.

El genotipo más frecuente en las razas cantábricas es el homocigoto $\mathbf{E^2}$ oscilando entre el 52% para la raza Asturiana de los Valles y el 90% para la raza Tudanca. Los homocigotos $\mathbf{E^2}$ sólo se presentan en un 16% en la raza Pajuna, donde el genotipo más frecuente es el heterocigoto de este alelo con el alelo salvaje (53%). En la raza Parda Alpina el genotipo más frecuente es el homocigoto salvaje (50%), seguido del heterocigoto del alelo salvaje con el alelo $\mathbf{E^1}$. El alelo recesivo **e** sólo se presenta en heterocigosis.

Los resultados obtenidos contrastan con los obtenidos por ROUZAUD et al. (2000) en razas francesas. Estos autores no encuentran en su trabajo el alelo $\mathbf{E^2}$ que es el más frecuente en las razas castañas españolas. Esto llama la atención, ya que algunas de las razas genotipadas por esos autores, como las Aubrac o la Gasconne se consideran emparentadas con las razas bovinas cantábricas españolas y presentan fenotipos similares a las razas asturianas. Además, aunque otros grupos han descrito la presencia del alelo $\mathbf{E^2}$ en la raza Parda Alpina (GRAPHODATSKAYA et al., 2000), nosotros no hemos encontrado ese alelo en ninguno de los 18 animales genotipados de esa raza.

Cabe destacar la elevada frecuencia del alelo $\mathbf{E^2}$ y del genotipo $\mathbf{E^2/E^2}$ fundamentalmente en la raza Tudanca (y en menor medida en la Asturiana de la Montaña), lo que hace pensar en un posible efecto fundador en estas razas o en un funcionamiento diferente de los libros genealógicos.

La variabilidad de frecuencias y distribución de los alelos del *locus Extension*, puede hacer pensar en la importancia del uso de este tipo de marcadores en estudios de diversidad (KLUNGLAND et al., 2000). Sería necesario proceder al genotipado de

una muestra representativa de animales de otras razas de capa castaña de la península ibérica y otros países de la cuenca mediterránea, para intentar explicar el origen de este alelo y su importancia en las relaciones histórico-geografías de las razas castañas ibéricas.

A pesar de la variabilidad alélica encontrada dentro de animales de capa castaña, no somos capaces de explicar ni las variaciones de tonalidad de color ni los patrones de distribución de pelos negros y rojos existentes en esta capa teniendo en cuenta únicamente el *locus Extension*. En otras palabras, no es posible, por el momento, asignar un fenotipo diferente a los alelos E^+, E^1 y E^2 dentro de los animales de capa castaña.

Tabla 1: Número de individuos y frecuencias alélicas y genotípicas (en porcentaje) para el *locus Extension* en cinco razas bovinas españolas de capa castaña

Razas		Frecuencias alélicas				Frecuencias Genotípicas							
	N	E^+	E^1	E^2	e	E^+/E^+	E^+/E^1	E^+/E^2	E^1/E^2	E^2/E^2	e/E^+	e/E^1	e/E^2
Asturiana de los Valles	62	12,9	12,9	70,2	4,0	3,2	4,8	13,0	19,4	51,6	1,6	1,6	4,8
Asturiana de la Montaña	36	8,3	4,2	84,7	2,8	2,8	-	11,1	8,3	72,2	-	-	5,6
Pajuna	30	40,0	5,0	50,0	5,0	10,0	-	53,3	10,0	16,7	6,7	-	3,3
Parda Alpina	18	72,2	19,5	8,3	-	50,0	33,3	11,1	5,6	-	-	-	-
Tudanca	31	8,1	-	91,9	-	6,5	-	3,2	-	90,3	-	-	-

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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.

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. Journal of Animal Breeding and Genetics, 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. Journal of Dairy Science, 84: 1768-1771.

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). Genetics, Selection, Evolution, 32: 511-520.

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.