# EFECTOS DEL GEN *MC4R* SOBRE RENDIMIENTO EN PIEZAS NOBLES Y CALIDAD DE CARNE EN CERDOS

C. Ovilo, A. Fernández, M. Nieto [1] y C. Rodríguez
Departamento de Mejora Genética Animal, INIA. 28040 Madrid
[1] COPESE, Conde de Sepúlveda 24, 40300 Sepúlveda

## INTRODUCCIÓN

El receptor 4 de melanocortina (*MC4R*) es una de las moléculas relacionadas con la regulación del comportamiento alimentario y el peso corporal. El gen que codifica esta proteína se considera por tanto candidato para caracteres de engrasamiento y crecimiento. En cerdos se ha identificado una mutación puntual no sinónima, localizada en una región altamente conservada entre los genes de receptores de melanocortina, que ha mostrado una asociación significativa con el espesor de tocino dorsal, el crecimiento y el consumo de alimentos en distintas líneas (Kim et al, 2000; Hernández-Sánchez et al., 2003). El objetivo de este trabajo ha sido la identificación de los polimorfismos presentes en este gen en una línea comercial Y; y el estudio de su asociación con algunos de los caracteres de engrasamiento y crecimiento previamente estudiados y otros de composición corporal y calidad de carne y grasa sobre los que no hay estudios previos. Se ha empleado un análisis TDT (transmission disequilibrium test) para contrastar la posible estratificación o mezcla de orígenes genéticos en la población que darían lugar a la detección de falsos efectos positivos (Hernández Sánchez et al., 2003).

## MATERIAL Y MÉTODOS

*Secuenciación del gen MC4R*. El gen *MC4R* está compuesto por un único exón de 999 pb. La secuenciación se realizó a partir de ADN genómico procedente de seis cerdos de la línea Y. Se diseñaron dos parejas de primers a partir de la secuencia del gen disponible (Genbank AB021664), que permitieron amplificar dos fragmentos solapados de 633 y 666 pb respectivamente. Ambas parejas cubren la región del gen comprendida entre las posiciones 459 y 1642, incluyendo la totalidad del único exón así como parte de las regiones 5' y 3' no codificantes. Los productos amplificados por PCR fueron purificados y secuenciados con el kit Big Dye Terminator (Applied Biosystems) en un secuenciador automático (ABI 3100). Las secuencias obtenidas fueron editadas, ensambladas y alineadas para la búsqueda de polimorfismos.

*Genotipado de SNPs*: El alineamiento de las secuencias permitió detectar dos SNPs. El primero es una sustitución C/T sinónima localizada en la posición 709 de la secuencia del gen. El segundo es una sustitución G/A no sinónima (Asp298Asn) localizada en la posición 1426 de la secuencia génica, que coincide con el polimorfismo descrito previamente en otras líneas porcinas (Kim et al, 2000). El polimorfismo G/A localizado en la posición 1426 fue genotipado mediante un protocolo PCR-RFLP *TaqI*. El patrón de restricción del alelo A presenta una única banda de 666 bases y el patrón del alelo G presenta dos bandas de 450 y 216 bases. Este protocolo se aplicó a 333 muestras de animales de la línea Y con registros, además de sus 9 padres y 59 de las 72 madres con ADN disponible.

*Modelos estadísticos:*

Modelo animal estándar (MA): El genotipo *MC4R* se incorpora en el modelo animal como una variable regresora (A) con valores 1, 0 y -1 para los genotipos AA, AG o GG y el lote de sacrificio como un efecto fijo de 5 niveles. Asimismo en el modelo se incluye una segunda covariable: a) la edad para los caracteres de crecimiento, el peso de la canal para los caracteres de engrasamiento en diversas localizaciones (P2, *Gluteus medius*, GM y escápula, E), el rendimiento en piezas nobles (Lomo, Paletas y Jamones) y el Parámetro L de color de carne; y b) la media de la grasa medida en dos puntos (P2 y GM) para el perfil de ácidos grasos (C16:0, C18:0, C18:1 y C18:2).

Prueba de Transmisión de Desequilibrio (TDT): El modelo animal es idéntico al anterior excepto en lo referente a los genotipos *MC4R*. Cada genotipo individual recibe un valor igual a $H_m\ (T_m - 1/2) + H_f\ (T_f - 1/2)$; donde $H_m\ (H_f)$ = 1 si el padre (madre) es heterocigoto y 0 si es homocigoto; $T_m(T_f)$ = 1, si el padre (madre) transmite el alelo A al individuo y 0 si transmite el alelo G. La pendiente de la correspondiente covariable, $b_{TD}$, es una estima robusta del efecto de sustitución aditivo del alelo A por G. Los efectos alélicos se estiman también via un segundo coeficiente de regresión, sensible al efecto de la estructura poblacional, $b_{PD}$. Los valores de la correspondiente variable regresora se obtienen de restar A – TD (Hernández-Sánchez, et al., 2003). Este método requiere el conocimiento del genotipo materno y del paterno. En este caso, se desconocía el genotipo de 13 de las 72 madres, aunque uno de los dos alelos se pudo inferir a través del conocimiento del genotipo de sus descendientes. El alelo desconocido fue simulado muestreando de una distribución uniforme y asignando estos alelos según las frecuencias encontradas en la línea materna (0.83 del alelo G y 0.17 del A). Se realizaron 1000 réplicas para generar distintas poblaciones de genotipos maternos y los coeficientes $b_{TD}$ y $b_{PD}$ fueron estimados para cada una de ellas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*Modelo animal estándar (MA)*: Las frecuencias observadas en los animales con registros para los genotipos AA, AG y GG fueron 0.08, 0.36 y 0.56, respectivamente. Los animales AA fueron más pesados y grasos que los animales GG, si bien de las tres medidas de peso analizadas y las tres medidas de grasa, sólo los efectos sobre el peso a los 140 días y las medidas de engrasamiento (P2 y E) fueron estadísticamente significativos (Tabla 1). Estos resultados concuerdan con los descritos por Kim et al. (2000) para las líneas comerciales Europeas/Americanas analizadas y no así para el cruce Large White x Meishan. Se observaron además efectos sobre nuevos caracteres: los animales AA fueron animales con un rendimiento significativamente menor en lomo y paletas, con una tonalidad de carne mas clara (Parámetro L) y mayor contenido de ácidos grasos saturados y menor de ácidos grasos insaturados que los animales GG.

*TDT:* El promedio de las estimas de $b_{TD}$ y $b_{PD}$ y sus errores se muestran en la Tabla 1, junto a su significación estadística. Salvo para el espesor de grasa en el punto P2, en todos los casos en los que los efectos génicos estimados mediante el modelo animal estándar fueron significativos, el coeficiente $b_{TD}$ también resultó significativamente distinto de cero. El hecho de que el $b_{PD}$ no sea significativo puede atribuirse a que sus errores son mayores al contar con menos información. En

ninguno de los caracteres analizados en nuestro estudio la estima $b_{TD}$ difirió de la estima $b_{PD}$ lo que muestra que no existe estratificación y por lo tanto riesgo de falsos positivos, pudiendo aceptarse como válidas las estimas obtenidas mediante MA.

Tabla 1: Resultados significativos de estimación del efecto medio de la sustitución del alelo A por G, usando TDT (PD y TD) y el modelo animal estándar (MA)

| Carácter | Estima | *b* | SE(*b*) | *t* | *g.l.* | P |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Peso 140d (Kg) | PD | 1.264 | 3.623 | 0.349 | 83 | >0.5 |
| | TD | 6.714 | 2.238 | 3.000 | | <0.005 |
| | MA | 5.451 | 1.995 | 2.732 | | <0.01 |
| Grasa P2 (mm) | PD | 1.843 | 1.270 | 1.451 | 333 | <0.2 |
| | TD | 1.352 | 0.719 | 1.880 | | <0.1 |
| | MA | 1.464 | 0.643 | 2.277 | | <0.05 |
| Grasa E (mm) | PD | 3.435 | 1.909 | 1.799 | 92 | <0.1 |
| | TD | 4.437 | 1.389 | 3.194 | | <0.005 |
| | MA | 4.145 | 1.173 | 3.534 | | <0.001 |
| C16:0 (%) | PD | 0.260 | 0.180 | 1.444 | 320 | <0.2 |
| | TD | 0.226 | 0.093 | 2.430 | | <0.02 |
| | MA | 0.233 | 0.084 | 2.774 | | <0.01 |
| C18:0 (%) | PD | 0.190 | 0.152 | 1.250 | 320 | <0.4 |
| | TD | 0.323 | 0.104 | 3.106 | | <0.005 |
| | MA | 0.283 | 0.090 | 3.144 | | <0.005 |
| C18:1 (%) | PD | -0.190 | 0.225 | 0.844 | 320 | <0.4 |
| | TD | -0.286 | 0.133 | 2.150 | | <0.05 |
| | MA | -0.263 | 0.118 | 2.229 | | <0.05 |
| C18:2 (%) | PD | -0.188 | 0.105 | 1.790 | 320 | <0.1 |
| | TD | -0.255 | 0.067 | 3.806 | | <0.001 |
| | MA | -0.236 | 0.059 | 4.000 | | <0.001 |
| Parámetro L | PD | -0.280 | 1.057 | 0.265 | 171 | >0.5 |
| | TD | 2.109 | 0.606 | 3.478 | | <0.001 |
| | MA | 1.623 | 0.556 | 2.919 | | <0.005 |
| Lomos (Kg) | PD | -0.086 | 0.049 | 1.755 | 250 | <0.1 |
| | TD | -0.079 | 0.029 | 2.724 | | <0.01 |
| | MA | -0.081 | 0.025 | 3.240 | | <0.005 |
| Paletas (Kg) | PD | -0.119 | 0.048 | 2.479 | 333 | <0.05 |
| | TD | -0.098 | 0.033 | 2.970 | | <0.005 |
| | MA | -0.105 | 0.028 | 3.750 | | <0.001 |

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hernández-Sánchez, J., Visscher, P., Plastow, G., Haley, C. (2003) Candidate gene analysis for quantitative traits using the transmission disequilibrium test: the example of the melanocortin 4 receptor in pigs. *Genetics* 164, 637-644.

Kim, K.S., Larsen, N., Short, T., Plastow, G., Rothschild, M. (2000) A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits. *Mammalian Genome* 11, 131-135.