DOS MEJOR QUE UNO: INTERACCION DE POLIMORFISMOS *RBP*4-*Msp*I y *ESR*1-*Pvu*II SOBRE EL TAMAÑO DE CAMADA EN UNA LINEA PORCINA CHINO-EUROPEA

Muñoz, M. [1], Ovilo, C., Muñoz, G., Fernández, A., Alves, E. y Silió L.
[1]Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Ctra. A Coruña km 7,5, 28040 Madrid
E-mail: mariamm@inia.es

INTRODUCCIÓN

Más de 20 polimorfismos (SNP) han sido descritos en genes porcinos con influencia sobre el tamaño de camada o sus componentes fisiológicos (Distl, 2007). Las compañías de mejora comienzan a utilizar en la selección de sus líneas maternas tests genéticos basados generalmente en algunos de estos polimorfismos (*ESR*1, *PRLR*, *RBP*4 y *FSHB*) con efectos de sustitución alélica comprendidos entre 0,25 y 1 lechón por camada (Rothschild, 2004). Sin embargo, ninguno de estos SNP corresponde a la mutación causal, por lo que sus efectos son inconsistentes entre las distintas razas y líneas genéticas. Por ello, su empleo efectivo como herramienta de selección de una determinada línea requiere realizar comprobaciones adicionales. El objetivo del presente trabajo fue la evaluación en la línea Tai zumu de los efectos sobre el tamaño de camada de dos de estos polimorfismos (*RBP*4-*Msp*I y *ESR*1-*Pvu*II) así como su posible interacción.

MATERIAL Y MÉTODOS

La línea Tai zumu fue obtenida por la empresa de genética porcina GENE+ a partir de la inseminación de cerdas Meishan y Jiaxing con verracos Large White hiperprolíficos, y posterior selección para crecimiento magro de la progenie a lo largo de nueve generaciones (Milan et al., 2003). En este trabajo se han utilizado los registros del número de lechones nacidos vivos en camadas obtenidas de cerdas genotipadas para los polimorfismos *RBP*4-*Msp*I y *ESR*1-*Pvu*II. Previamente se realizó una búsqueda de nuevos SNP del gen *RBP*4 en su cDNA y en un fragmento de DNA genómico de 553 pb, que incluye los exones 2, 3 y 4 y por tanto la probable posición del polimorfismo intrónico *RBP*4-*Msp*I (Rothschild et al., 2000). Para la amplificación del cDNA, se diseñaron dos parejas de cebadores a partir de la secuencia publicada de mRNA porcino (GenBank, NM_214057). La amplificación del fragmento de DNA genómico se llevó a cabo mediante el protocolo de Rothschild et al. (2000). Los productos amplificados fueron secuenciados en ambas direcciones en un secuenciador automático ABI 3730. Las secuencias fueron editadas y alineadas con el paquete informático Winstar. Para el genotipado del polimorfismo *RBP*4-*Msp*I (c.248+106C>G) se utilizó el protocolo de Rotschild et al. (2000). El genotipado del SNP *ESR*1-*Pvu*II se realizó en un trabajo previo (Muñoz et al., 2007) mediante el protocolo de Short et al. (1997). Para el análisis de asociación, los registros de tamaño de camada de los dos primeros partos (NV_{12}) y del tercero y posteriores (NV_{3+}) se consideraron caracteres genéticamente distintos (γ_G= 0,54). Se utilizó un modelo animal bivariado con efecto permanente, en el que como efectos sistemáticos figuran los efectos de granja-año-estación, ordinal de parto, tipo genético (Tai zumu o Landrace) del padre de la camada, y -en su versión más completa- los efectos aditivo y dominante de los polimorfismos analizados y la interacción aditiva x aditiva entre ambos. Los valores de las variables indicadoras de los efectos aditivos (α= 0, 1, 2), dominantes (δ = 0, 1) y de la interacción aditiva x aditiva (ψ = 0, 1, 2 y 4) son función del número de copias alélicas recibidas de cada SNP por cada cerda. La significación estadística de los efectos se calculó comparando los correspondientes modelos completo y reducido mediante la aproximación χ^2 al cociente de verosimilitudes (LR). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa QxPak (Pérez Enciso y Misztal, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante la secuenciación y alineamiento del fragmento del gen *RBP*4 amplificado a partir de DNA genómico, se detectaron en Tai zumu cinco SNP intrónicos: c.110+47C>T, c.248+15T>G, c.248+16G>A, c.248+27A>T y c.248+106C>G, éste último coincidente con el *RBP*4-*Msp*I (Rothschild et al., 2000), y un SNP silente en el tercer exón: c.156A>G. El

alineamiento de secuencias de cDNA confirmó la presencia de este SNP silente, pero no se detectaron otros polimorfismos exónicos. Tres de los SNPs intrónicos y el SNP exónico cosegregan con el *RBP*4-*Msp*I (c.248+106C>G). El cuarto SNP (c.248+27A>T) resultó poco informativo, por lo que se desestimó el genotipado de nuevos polimorfismos de este gen. El genotipado del SNP *RBP*4-*Msp*I en 534 cerdas madres de 2.000 camadas permitió identificar 142 cerdas GG, 261 GC y 131 CC, siendo 0,51 la frecuencia del alelo G y 0,49 la del alelo C. En cuanto al SNP *ESR*1-*Pvu*II, su distribución de genotipos en 403 cerdas madres de 1.667 camadas fue la siguiente: 56 AA, 180 AB y 167 BB, con frecuencias 0,36 del alelo A y 0,64 del alelo B. El número medio de nacidos vivos fue 12,8 lechones en los dos primeros partos (NV_{12}) y 12,9 en los partos tercero y posteriores (NV_{3+}), con 957 y 1.043 registros respectivos. Los efectos aditivos y dominantes obtenidos en los análisis independientes de los dos SNP se presentan en la Tabla 1. Se ha detectado un efecto significativo del alelo *RBP*4-*Msp*I G de +0,42 lechones en los dos primeros partos, pero que no se mantiene en los partos posteriores. No se encontraron efectos aditivos significativos del SNP *ESR1-Pvu*II, ni ningún efecto dominante.

Tabla 1. *Efectos aditivos* y dominantes de los SNP RBP4-MspI y ESR1-PvuII sobre nacidos vivos por camada* (NV_{12} *y* NV_{3+}) *estimados en análisis separados de ambos genes*

	RBP4-MspI		*ESR1-PvuII*	
	Aditivo ± SE	Dominante ± SE	Aditivo ± SE	Dominante ± SE
NV_{12}				
Efecto, lechones	0,42 ± 0,18	-0,17 ± 0,25	-0,06 ± 0,30	-0,14 ± 0,39
Prob = 0	0,016	0,449	0,840	1,000
NV_{3+}				
Efecto, lechones	0,03 ± 0,19	-0,01 ± 0,26	0,03 ± 0,30	0,06 ± 0,40
Prob = 0	0,899	0,934	0,920	1,000

* efectos de sustitución de *RBP4-MspI* C por *RBP4-MspI* G y de *ESR1-PvuII* A por *ESR1-PvuII* B

El análisis conjunto de los efectos de los dos SNP se realizó sobre una muestra de 1.533 registros de camadas nacidas de las 375 cerdas genotipadas para ambos genes. En un análisis preliminar con el modelo completo se confirmó la no significación de los efectos dominantes. Los resultados obtenidos con un modelo reducido a los efectos aditivos de los SNP y sus interacciones, se presentan en la Tabla 2. Para NV_{12} no se observó interacción significativa entre ambos genes siendo similares los resultados a los obtenidos en los análisis por separado, si bien afectados por el menor tamaño de muestra. El resultado más notable es la significativa interacción de los efectos aditivos de ambos SNP sobre NV_{3+} (LR = 4,831; *P* = 0,028), que indica que a partir del tercer parto el efecto del SNP *RBP*4-*Msp*I es dependiente del *ESR*1-*Pvu*II. Los genotipos más prolíficos fueron las combinaciones homocigóticas [*RBP*4-*Msp*I;GG/ *ESR*1-*Pvu*II;AA] y [*RBP*4-*Msp*I;CC/ *ESR*1-*Pvu*II;BB], y los genotipos menos prolíficos las combinaciones alternativas de homocigotos [*RBP*4-*Msp*I;GG/ *ESR*1-*Pvu*II;BB] y [*RBP*4-*Msp*I;CC/ *ESR*1-*Pvu*II;AA] (Figura 1).

Tabla 2. *Efectos aditivos* e interacción aditiva de los SNP RBP4-MspI y ESR1-PvuII sobre nacidos vivos por camada* (NV_{12} *y* NV_{3+}) *estimados en el análisis conjunto de ambos genes*

	RBP4-MspI	*ESR1-PvuII*	
	Aditivo ± SE	Aditivo ± SE	Interacción ± SE
NV_{12}			
Efecto, lechones	0,44 ± 0,43	-0,21 ± 0,40	0,11 ± 0,30
Prob = 0	0,302	0,603	0,701
NV_{3+}			
Efecto, lechones	0,79 ± 0,41	0,73 ± 0,39	-0,61 ± 0,29
Prob = 0	0,050	0,059	0,028

* efectos de sustitución de *RBP4-MspI* C por *RBP4-MspI* G y de *ESR1-PvuII* A por *ESR1-PvuII* B

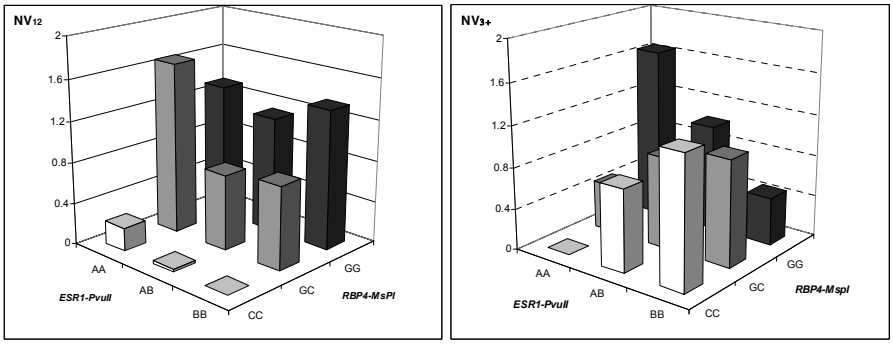


Figura 1. *Interacción entre genotipos RBP4-MspI y ESR1-PvuII sobre nacidos vivos por camada en los dos primeros partos* (NV_{12}) *y partos tercero y posteriores (*NV_{3+})

Un resultado similar ha sido descrito por Gonçalves et al. (2008) en una línea comercial brasileña que -como Tai zumu- incluye cerdos de razas Chinas entre sus ascendientes. Aunque pudiera plantearse la utilización del SNP *RBP*4-*Msp*I para la mejora de la prolificidad en los dos primeros partos, a la vista de la interacción detectada en los partos posteriores, la selección conjunta para ambos genotipos sería notablemente más eficiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Distl, O. 2007. *Reprod. Domest. Anim.* 42 Suppl 2: 10-6. • Milan, D., Demeure, O., Laval, G., Lannuccelli, N., Genet, C., Bonnet, M., Burgaud, G., Riquet, J., Gasnier, C & Bidanel, J.P. 2003. *J. Recher. Porc.* 35: 309-316. • Muñoz, G., Óvilo, C., Estellè, J., Silió, L., Fernández, A. & Rodriguez, C. 2007. *Gen. Sel. Evol.* 39: 195-206. • Pérez-Enciso, M. & Misztal, I. 2004. *Bioinf*. 20: 2792–2798. • Rothschild, M.F., Messer, L., Day, A., Wales, R., Short, T., Southwood, O. & Plastow G. 2000. *Mamm. Genome.* 11(1):75-77. • Rothschild, M.F., 2004. *Genet. Res.* 83: 1-6. • Short, T.H., Rothschild, M.F., Southwood, O.I., McLaren, D.G., de Vries, A., van der Steen, H., Eckardt, G.R., Tuggle, C.K., Helm, J., Vaske, D.A., Mileham, A.J. & Plastow, G.S. 1997. *J. Anim. Sci*. 75: 3138-3142. • Gonçalves, I.D.V, Gonçalves, P.B.D., Silva, J.C., Portela, Jr V.V., Borges, L.F.K., Oliveira, J.F.C. & Lovatto, P.A. 2008. *Genet. Mol. Biol.* 31: 481-486.

Agradecimientos: Agradecemos a F. Flamarique y M. Sourdioux (GENE +) su amable colaboración para facilitarnos registros y muestras biológicas.

INTERACTION BETWEEN *RBP*4-*Msp*I AND *ESR*1-*Pvu*II POLYMORPHISMS ON LITTER SIZE IN A CHINESE EUROPEAN PIG LINE

ABSTRACT: Pig breeding companies have implemented some genetic tests based on SNP of genes with influence on litter size. However these SNP are not the causative mutations and additional verifications would be required to use them as a tool for the selection of prolific pigs. The objective of this study was the evaluation of the effects and the potential interaction of *RBP*4-*Msp*I and *ESR*1-*Pvu*II SNPs on litter size in the Tai-zumu Chinese European line. Association analysis was performed considering the records of live born piglets from the two first parities (NV_{12}) and those from the third and later parities (NV_{3+}) as different traits. The *RBP4-Msp*I G allele was found significantly associated with NV_{12} (0.42 $\pm$ 0.18 piglets), but significant effects on litter size were not found for *ESR*1-*Pvu*II. A significant additive interaction between both SNP on NV_{3+} was detected in the joint analysis. The most prolific sows were the [*RBP4-Msp*I;GG/ *ESR*1-*Pvu*II;AA] and [*RBP4-Msp*I;CC/ *ESR*1-*Pvu*II;BB] genotypes. Therefore, combined selection of both favorable genotypes should be particularly recommended for improving litter size persistency in this line.

Keywords: pig, litter size, genetic tests, additive interaction