

ASOCIACIÓN DE UNA MUTACION NO SINÓNIMA DEL GEN *MC4R* CON EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE PIEZAS NOBLES EN CERDOS IBÉRICOS

C. Óvilo, A. Fernández, E. De Pedro¹, J. García-Casco², C. Rodríguez y L. Silió
Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, 28040 Madrid

¹Departamento de Producción Animal, Universidad de Córdoba, 14004 Córdoba

²AE CERIBER, 06300 Zafra, Badajoz

Resumen

Una mutación no sinónima (Asp298Asn) localizada en una región altamente conservada del gen del receptor 4 de la melanocortina (*MC4R*) ha sido asociada en diferentes líneas porcinas con el espesor de grasa dorsal, consumo de pienso, crecimiento y composición de la canal, si bien con resultados no totalmente consistentes. En este estudio, 913 cerdos Ibéricos y 28 jabalíes de diversos orígenes fueron genotipados para este polimorfismo del gen *MC4R*, y se analizó su asociación con caracteres productivos y de calidad en 701 cerdos Ibéricos con registros fenotípicos. Los genotipos observados mostraron una alta frecuencia (0,92) en la raza Ibérica del alelo G (Asp298), que es monomórfico entre los jabalíes genotipados. El alelo A (Asn298) está significativamente asociado con una mayor ganancia diaria de peso en el período de engorde en montanera y con un menor porcentaje de piezas nobles. Asimismo se ha detectado una asociación sugestiva ($P < 0,10$) de este alelo con el contenido en grasa muscular. En función de estos resultados, se discute la utilidad de este polimorfismo del gen *MC4R* en la selección de cerdos Ibéricos.

Palabras clave: Gen *MC4R*; cerdo Ibérico; composición de canal; grasa intramuscular

Association of a missense mutation in the *MC4R* gene with growth and carcass traits in Iberian pigs

Summary

A missense mutation (Asp298Asn) located in a highly conserved region of the melanocortin-4 receptor gene (*MC4R*) has been associated in different pig lines with backfat thickness, feed intake, growth rate and carcass composition although the results are inconsistent. In this study, 913 Iberian pigs and 28 wild boars of diverse origins were genotyped for this *MC4R* polymorphism, and its association with performance and quality traits was analyzed in 701 Iberian pigs with phenotypic records. The observed genotypes showed a high frequency (0,92) in the Iberian breed of the G allele (Asp298), that was monomorphic in the wild boars. The A allele (Asn298) was significantly associated with increased daily growth gain in the fattening period and lower percentage of premium cuts. A suggestive association ($P < 0,10$) of this allele with increased intramuscular fat was also detected. The usefulness of this *MC4R* polymorphism for selection of Iberian pigs is discussed.

Key words: *MC4R* gene; Iberian pig; carcass composition; intramuscular fat

INTRODUCCIÓN

La producción de cerdo Ibérico está orientada mayoritariamente a la obtención de cerdos pesados, materia prima de una importante industria transformadora orientada a la

elaboración de productos curados de alta calidad. Actualmente existe un programa de evaluación genética de cerdos Ibéricos, a cargo de la Asociación de Ganaderos AECEBIBER, basado en datos registrados en cerdos sometidos a un manejo común conforme al sistema extensivo tradicional de 'Montanera' (López-Bote, 1998). Su objetivo es la mejora del crecimiento en la fase final del engorde y del rendimiento en piezas nobles, que son los caracteres de mayor influencia económica (Silió, 2000). La mejora genética de estos caracteres debe evitar la disminución del contenido en grasa intramuscular (GIM), que debe ser elevado para favorecer una lenta deshidratación en el proceso de curación, una adecuada producción de aromas y el veteado de los productos apreciado por los consumidores. Una selección intensa orientada exclusivamente a la mejora del rendimiento en piezas nobles originaría a largo plazo una reducción del contenido en GIM y de la calidad de los productos, aunque la estructura actual de las correlaciones genéticas entre estos caracteres permite descartar a corto plazo estos cambios no deseables (Fernández et al, 2003).

Son varios los genes candidatos propuestos para ser utilizados como herramientas auxiliares en la selección de poblaciones porcinas. Uno de los más sólidamente fundados es el gen del receptor 4 de la melanocortina (*MC4R*), que se expresa en el cerebro produciendo una proteína implicada en la regulación del balance energético de los mamíferos. Una sustitución nucleotídica G/A localizada en la posición 1426 del gen *MC4R* porcino origina un cambio de aminoácido (Asp298Asn), en una posición altamente conservada en otras especies y otros receptores de melanocortina (Kim et al., 2004). Esta mutación no sinónima presenta en distintas razas y líneas de cerdos efectos sobre espesor de tocino dorsal, crecimiento y consumo de alimentos (Kim et al, 2000; Hernández-Sánchez et al., 2003; Houston et al., 2004). Estudios más recientes muestran una asociación significativa del polimorfismo con caracteres de composición corporal y

calidad de carne y grasa (Chen et al., 2005; Jokubka et al., 2006; Óvilo et al., 2006). Si bien en la mayoría de los trabajos el alelo A se asocia a un mayor crecimiento y engrasamiento, y a un menor rendimiento en piezas nobles, en algunas líneas los resultados han sido inconsistentes (Park et al., 2002; Jokubka et al., 2006). Asimismo se han descrito efectos divergentes sobre el contenido en grasa intramuscular en distintas líneas (Stachowiak et al., 2006).

El gen *MC4R* puede afectar por tanto a los caracteres productivos y de calidad de mayor interés en cerdos Ibéricos, y la selección asistida por este gen tendría especial interés en esta raza, dadas las ineficiencias que presenta su selección convencional dependiente de registros obtenidos en animales emparentados con los candidatos y sacrificados tras un largo ciclo productivo (Silió, 2000). Por ello, el objetivo de este trabajo ha sido el estudio de la variabilidad del citado polimorfismo del gen *MC4R* en una amplia muestra de cerdos Ibéricos de diferentes orígenes genéticos, y de su posible asociación con los caracteres registrados en el esquema de AECERIBER.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y registros fenotípicos

Para el estudio de las frecuencias alélicas de la mutación citada del gen *MC4R* se analizaron muestras biológicas (pelo, sangre o músculo) de 913 cerdos Ibéricos de ganaderías asociadas a AECERIBER, asignados a las siguientes variedades: 596 animales Retintos procedentes de 11 ganaderías, 280 animales Entrepelados de seis ganaderías, 22 Negro Lampiños de dos ganaderías y 15 animales de la estirpe Torbiscal del CIA ‘Dehesón del Encinar’. Como referencia fueron genotipados además 28 jabalíes abatidos en cacerías en diversas localidades españolas.

Los registros disponibles para el análisis de asociación fueron obtenidos en cuatro campañas diferentes (2001/02 a 2004/05) del esquema de evaluación de AECERIBER. En

este esquema, animales de diferentes ganaderías son trasladados con 3-4 meses de edad a una finca común, siendo alimentados con pienso en régimen de alimentación restringida hasta un peso aproximado de 100 kg. Posteriormente y hasta el sacrificio, a un peso medio de 160 kg, los animales son engordados en régimen de “Montanera”, con alimentación *ad libitum* de bellotas y pasto. La ganancia media diaria en la fase final de engorde (GMD) se obtuvo a partir del cociente entre el peso ganado y los días transcurridos entre la entrada y salida en montanera. Después del sacrificio, se registraron el peso de la canal caliente y los pesos de los jamones, paletas y lomos. A partir de una muestra del músculo *Longissimus dorsi*, obtenida al nivel de la cuarta costilla, se determinó mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) el contenido de grasa intramuscular, humedad y proteína (Fernández et al., 2003). El análisis de asociación se realizó en 701 animales nacidos en 12 ganaderías, seis de la variedad Entrepelado y seis de la variedad Retinto, que presentaron segregación de los alelos del gen *MC4R*. La información de los caracteres registrados en estos animales se muestra en la Tabla 1.

Genotipado

El polimorfismo G/A de la posición 1426 del gen *MC4R* fue genotipado mediante un protocolo PCR-RFLP *TaqI*, cuyos detalles pueden encontrarse en Óvilo et al. (2006). El patrón de digestión por el enzima de restricción en el 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 los 941 cerdos Ibéricos y jabalíes incluidos en el estudio de variabilidad.

Análisis estadístico

El modelo animal empleado para el estudio de los efectos del gen *MC4R* sobre los caracteres analizados incluía como efectos fijos, además del genotipo de cada animal

con datos (3 niveles), la ganadería de origen (12 niveles), el lote de sacrificio (19 niveles) y como covariable el peso de la canal. Como componentes de (co)varianzas se emplearon los obtenidos por Fernández et al. (2003) en la estimación de parámetros realizada a partir de registros de 2.500 cerdos Ibéricos del mismo esquema.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran la distribución de genotipos y frecuencias alélicas del gen *MC4R* en las diferentes variedades y estirpes analizadas. El alelo G de este gen es el único presente en los jabalíes genotipados, siendo además el mayoritario en los cerdos Ibéricos, que en nuestro estudio presenta una frecuencia 0,92. Con respecto a las diferentes orígenes analizados, es en la variedad Entrepelado donde el alelo A aparece con mayor frecuencia (0,17), siendo la variedad Negro Lampiño y la estirpe Torbiscal prácticamente monomórficas para el alelo G. Estos resultados son globalmente coincidentes con los descritos por Burgos et al. (2006) a partir de un muestreo más reducido de seis jabalíes y 48 cerdos Ibéricos.

De los 701 cerdos Ibéricos incluidos en el estudio de asociación, 561 son homocigotos GG, 129 heterocigotos AG y sólo 11 homocigotos AA. Este reducido número de genotipos AA no permite estimar de forma precisa sus efectos sobre los caracteres analizados, por lo que para la estimación de los efectos del polimorfismo se utilizó únicamente la información de los genotipos AG y GG. El examen de las diferencias entre estos genotipos indica dos efectos significativos: los homocigotos GG tienen una menor ganancia diaria de peso en el período de ceba extensiva y un mayor porcentaje de piezas nobles sobre el peso de la canal, atribuible a un mayor peso de los jamones (Tabla 3). Hay asimismo indicación de un posible efecto negativo del alelo A sobre el contenido en GIM en el músculo *Longissimus dorsi*, que no alcanza la significación estadística ($P < 0,10$).

El efecto positivo del alelo A sobre el crecimiento ha sido anteriormente descrito en razas de cerdos de producción intensiva para un rango de pesos inferiores a los 100 kg (Kim et al., 2000; Ovilo et al., 2006). En el presente estudio, el efecto positivo de esta mutación sobre el crecimiento se confirma para el período de engorde comprendido entre los 100 y 160 kg registrado en cerdos grasos sometidos a manejo extensivo. El efecto negativo de este alelo sobre el rendimiento de algunas piezas nobles (paletas y lomos) ha sido ya descrito en canales de cerdos de origen Chino-Europeo sacrificados con 127 kg de peso medio (Ovilo et al., 2006). Dadas las múltiples diferencias entre tipos genéticos, de producción y de despiece, no hay motivo para sorprenderse de que en este trabajo en cerdos Ibéricos el efecto significativo detectado sobre la composición de la canal corresponda al peso de los jamones. Los resultados en conjunto son congruentes con el efecto del cambio aminoacídico Asp298Asn en la proteína MC4R sobre la regulación del apetito y del crecimiento relativo de tejido graso y muscular. Por esta vía se explicaría asimismo el posible efecto del alelo A sobre el contenido de grasa intramuscular.

A la vista de las frecuencias alélicas de gen *MC4R* y de la magnitud y sentido de sus efectos estimados sobre caracteres productivos y de calidad, no parece recomendable su utilización en la selección de cerdos Ibéricos con objetivos análogos al del esquema de AECERIBER. La selección favorable para el alelo G carece prácticamente de oportunidades dada su frecuencia abrumadoramente mayoritaria en la población, y el moderado efecto de este alelo sobre el porcentaje de piezas nobles va unido al riesgo de un importante efecto negativo sobre el contenido de grasa intramuscular. Con cierta alegría, Burgos et al. (2006) han sugerido una selección a favor del alelo A en la población de cerdos Ibéricos para favorecer un engrasamiento aun mayor, pero podemos afirmar que este tipo de selección –cuyo objetivo es muy discutible– penalizaría además

el rendimiento en piezas nobles. En nuestra opinión sólo estaría justificada – de confirmarse el efecto positivo de este alelo sobre el contenido de GIM – para la selección de una línea de madres destinada al cruce con machos de raza Duroc. Los productos de este cruce, ampliamente extendido dentro y fuera del área de producción tradicional, se engordan en cebadero con pienso comercial y se sacrifican con peso similar y edad muy inferior (9-10 meses) a las de los Ibéricos puros engordados en extensivo (160 kg y 14-18 meses). Un mayor contenido de GIM, innecesario en las canales de cerdos Ibéricos puros, puede ser deseable en animales cruzados Duroc x Ibérico para optar a una mayor calidad de productos o para reducir los costes de producción mediante la disminución del peso o edad de sacrificio. En tal caso deberían realizarse previamente estudios de asociación en animales cruzados, dado que los efectos del gen *MC4R* sobre los caracteres de interés son dependientes del entorno genético singular de cada población de cerdos (Park et al., 2002; Jokubka et al., 2006; Stachowiak et al., 2006).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Paloma Ureta y Florencio Álvarez, técnicos de AECEBIBER, su inestimable ayuda en la obtención de los registros de campo y despiece, así como a Nines López, Patricia Muñoz y Nuria Pacheco su asistencia técnica en el trabajo de genotipado.

BIBLIOGRAFÍA

- Burgos C, Carrodegas JA, Moreno C, Altarriba J, Tarrafeta L, Barcelona JA, López-Buesa P, 2006. Allelic incidence in several pig breeds of a missense variant of pig melanocortin-4 receptor (MC4R) gene associated with carcass and productive traits; its relation to IGF2 genotype. *Meat Sci.* 73: 144-150.
- Chen JF, Xiong YZ, Zuo B, Zheng R, Li FE, Lei MG, Li JL, Deng CY, Jiang SW, 2005. New evidence of effect of melanocortin-4 receptor and insulin-like growth factor 2 genes on fat deposition and carcass traits in different pig populations. *Asian Austral. J. Anim.* 18: 1542-1547.
- Fernández A, de Pedro E, Núñez N, Silió L, García-Casco J, Rodríguez C, 2003. Genetic parameters for meat and fat quality and carcass composition traits in Iberian pigs. *Meat Sci.* 64: 405-410.

- 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.
- Houston RD, Cameron ND, Rance KA, 2004. A melanocortin four receptor (MC4R) polymorphism is associated with performance traits in divergently selected large white pig populations. *Anim. Genet.* 35(5): 386–390.
- Jokubka R, Maak S, Kerziene S, Swalve HH, 2006. Association of a melanocortin 4 receptor (MC4R) polymorphism with performance traits in Lithuanian White pigs. *J. Anim. Breed. Genet.* 123: 17-22.
- Kim KS, 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. *Mamm. Genome* 11: 131-135.
- Kim KS, Reecy JM, Hsu WH, Anderson LL, Rothschild MF, 2004. Functional and phylogenetic analyses of a melanocortin-4 receptor mutation in domestic pigs. *Domest. Anim. Endocr.* 26: 75-86.
- López-Bote C, 1998. Sustained utilization of the Iberian pig breed. *Meat Sci.* 49 Suppl. 1, S17-S27.
- Óvilo C, Fernández A, Rodríguez MC, Nieto M, Silió L, 2006. Association of MC4R gene variants with growth, fatness, carcass composition and meat and fat quality traits in heavy pigs. *Meat Sci.* 73: 42-47.
- Park HB, Carlborg O, Marklund S, Andersson L, 2002. Melanocortin four receptor (MC4R) genotypes have no major effect on fatness in a Large White x Wild Boar intercross. *Anim. Genet.* 33: 155–157.
- Silió L, 2000. Iberian pig breeding programme. In S. Galal, J. Boyazoglu, and K. Hammond (Eds.), *Developing breeding strategies for lower input animal production environments* (pp. 511–519). Rome: ICAR.
- Stachowiak M, Szydlowski M, Obarzanek-Fojt M, Switonski M, 2006. An effect of a missense mutation in the porcine melanocortine-4 receptor (MC4R) gene on production traits in Polish pig breeds is doubtful. *Anim. Genet.* 37: 55-57.

Tabla 1. Principales estadísticos de los caracteres analizados

<i>Caracteres</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>SD</i>	<i>CV (%)</i>
Crecimiento				
GMD, g/d	693	608	153	25
Peso al sacrificio, kg	701	162,37	13,97	9
Composición corporal				
Peso de la canal, kg	701	131,13	12,21	9
Peso de jamones, kg	701	21,24	1,93	9
Peso de paletas, kg	701	14,45	1,27	9
Peso de lomos, kg	700	2,90	0,42	15
Piezas nobles, %	700	29,52	1,98	7
Calidad de la carne				
Grasa Intramuscular, %	486	9,54	3,33	35
Proteína, %	486	19,57	1,09	6

Tabla 2. Distribución de genotipos y frecuencias alélicas del gen *MC4R* en jabalíes y cerdos Ibéricos de diversos orígenes genéticos

	<i>N</i>	A/A	A/G	G/G	A	G
<i>Ibéricos</i>						
Retintos	596	1	56	539	0,05	0,95
Entrepelados	280	10	73	197	0,17	0,83
Negro Lampiños	22	0	1	21	0,02	0,98
Torbiscal	15	0	0	15	0,00	1,00
<i>Jabalíes</i>	28	0	0	28	0,00	1,00

Tabla 3. Efecto de la mutación del gen *MC4R* sobre los caracteres analizados: contraste entre genotipos heterocigotos AG con respecto a homocigotos GG

<i>Caracteres</i>	<i>Media</i>	<i>Diferencia A/G – G/G</i>	
		<i>Error típico</i>	<i>P</i>
Crecimiento			
GMD, g/d	23	12	< 0,05
Composición corporal			
Peso de jamones, kg	- 0,37	0,11	< 0,001
Peso de paletas, kg	- 0,08	0,08	< 0,40
Peso de lomos, kg	0,00	0,03	> 0,50
Piezas nobles, %	- 0,34	0,13	< 0,01
Calidad de la carne			
Grasa Intramuscular, %	0,62	0,38	< 0,10
Proteína, %	- 0,13	0,10	< 0,20