

## ESTUDIO DE LAS RELACIONES GENÉTICAS DE LAS ESTIRPES DEL CERDO IBERICO MEDIANTE MARCADORES MICROSATÉLITES

**Membrillo A.<sup>1</sup>, Azor P.J.<sup>1</sup>, Clemente I.<sup>1</sup>, Dorado G.<sup>2</sup>, Diéguez E.<sup>3</sup>,  
Gómez, J. <sup>1</sup>, Jiménez A.<sup>1</sup>, Santos E.<sup>1</sup> y Molina A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Grupo Meragem. Dpto de Genética. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. Edif. Mendel Pl. Baja. Campus de Rabanales. Ctra. N-IV, km 396<sup>a</sup>. 14071 Córdoba. SPAIN. E-mail: agr158iberico@gmail.com

<sup>2</sup> Dpto de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Córdoba. Edif. Severo Ochoa. Campus de Rabanales. Ctra. N-IV, Km 396<sup>a</sup>. 14071 Córdoba. SPAIN

<sup>3</sup> Asociación Española de Criadores de Ganado Porcino Selecto Ibérico Puro y Tronco Ibérico. C/ San Francisco, 51, 1<sup>o</sup>-D. 06300 Zafra. Badajoz. SPAIN

### INTRODUCCIÓN

El Cerdo Ibérico constituye la única raza porcina autóctona de fomento de España incluida en el Catálogo oficial de razas de ganado de España (RD 1682/1997). Esta raza presenta una gran variabilidad que se traduce en la presencia de varias estirpes dentro de ella. Aunque existen varias estirpes del Cerdo Ibérico, actualmente existen 4 oficialmente reconocidas en el catálogo de razas (Orden APA/53/2007) (Entrepelado, Negro Lampiño, Retinto y Torbiscal). Hasta el momento, la base de la diferenciación de las estirpes se ha llevado a cabo en base a caracteres morfológicos y fanerópticos principalmente. Hoy día esta diferenciación puede ser estudiada desde el punto de vista genético utilizando herramientas de genética molecular. Existen varios trabajos en los que se ha demostrado que los marcadores moleculares de tipo microsatélite son una herramienta de gran valor para su uso en estudios de diferenciación genética de poblaciones de animales (Azor *et al.*, 2007, Martínez *et al.*, 2000). El objetivo de este trabajo ha sido poner de manifiesto las relaciones genéticas existentes entre las diferentes estirpes y líneas reconocidas tradicionalmente en el Cerdo Ibérico utilizando marcadores microsatélites.

**Palabras clave:** Cerdo Ibérico, estirpes, variabilidad genética, microsátelites, diferenciación genética.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se han utilizado 350 animales de la raza porcina ibérica representantes de las estirpes: Entrepelado, Negro Lampiño, diferentes líneas de Retinto (Villalón, Silvela, Valdesequera y Mamellado), Torbiscal y otras como cerdos Alentejanos, el Manchado de Jabugo y el Negro de los Pedroches. Las muestras fueron sangre entera extraída del seno infraorbitario, utilizando sistemas Vacutainer® en tubos de 7 ml que contenían EDTAk3 como anticoagulante. También se han tomado muestras de 30 animales de la raza Duroc para su utilización como referencia y por su importancia ya que se utiliza como raza parental en los cruzamientos que se llevan a cabo en el cerdo ibérico de acuerdo a la Norma de Calidad (RD 1083/2001).

La extracción del ADN a partir de las muestras se llevó a cabo utilizando la metodología de Miller *et al.*, (1998) y digestión con proteinasa K. Todos los animales fueron genotipados para un total de 35 marcadores microsátelites distribuidos por todo el genoma porcino entre los que se encuentran los 25 recomendados por la FAO para este tipo de estudios. Los marcadores microsátelites fueron amplificados mediante PCR múltiple (Reacción en cadena de la Polimerasa). Los fragmentos amplificados fueron comprobados en gel de agarosa al 2% y posteriormente analizados en un secuenciador automático capilar ABI3730 de Applied Biosystems. Los alelos fueron tipificados con el software GeneMapper v4.0.1. Para el cálculo de los estadísticos relacionados con la variabilidad y diferenciación poblacional se ha usado el software Genetix v 4.0.5. Para determinar la proximidad genética entre las diferentes poblaciones analizadas hemos calculado la matriz de distancia de Reynolds (Reynolds *et al.*, 1983) y se ha representado utilizando el algoritmo Neighbour Joining usando el software Phylip v3.65.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número medio por locus por población ha oscilado entre 2,25 y 2,54 en las poblaciones Manchado de Jabugo y Villalón y 4,8 en la raza Duroc (Tabla 1).

**Tabla 1. Valores de Heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He) y número medio de alelos por locus en las poblaciones Ibérica y Duroc analizadas.**

	He	Ho	Na medio/locus
DUROC	0,5744	0,5118	4,8
ALENTEJANO	0,5594	0,6081	4,2
MANCHADO DE JABUGO	0,3188	0,3516	2,3
NEGRO DE LOS PECROCHES	0,6045	0,6157	4,1
ENTREPELADO	0,5820	0,5225	4,4
LAMPIÑO	0,5736	0,5408	4,4
VALDESEQUERA	0,4043	0,4144	3,3
SILVELA	0,5827	0,6504	4
TORBISCAL	0,5383	0,5310	4,2
VILLALÓN	0,4306	0,4631	2,5
MAMELLADO	0,5791	0,5335	4,4

Al calcular los valores de las heterocigosidades observada (Ho) y esperada (He) se comprueba que de nuevo las poblaciones Manchado de Jabugo y Villalón son las poblaciones que presentan los menores valores, indicativo de una menor variabilidad genética y por tanto menor consanguinidad. Para estos parámetros la población de Negro de los Pedroches ha sido la población que ha presentado los valores más elevados

Cuando estudiamos los estadísticos F de Wright medios entre todas las poblaciones (Tabla 2) y entre todos los pares de poblaciones (Tabla 3) observamos que los valores para el FST son muy elevados, lo que indica que la proporción de la variación debida a la diferencia entre poblaciones es muy elevada (20%), mayor a la obtenida entre otras razas de animales domésticos, o lo que es lo mismo, que existe una gran diferenciación entre ellas. El mayor nivel de diferenciación genética lo presenta la población Manchado de Jabugo con respecto al resto de estirpes, incluso mayor a la observada entre la raza Duroc y el resto de estirpes ibéricas.

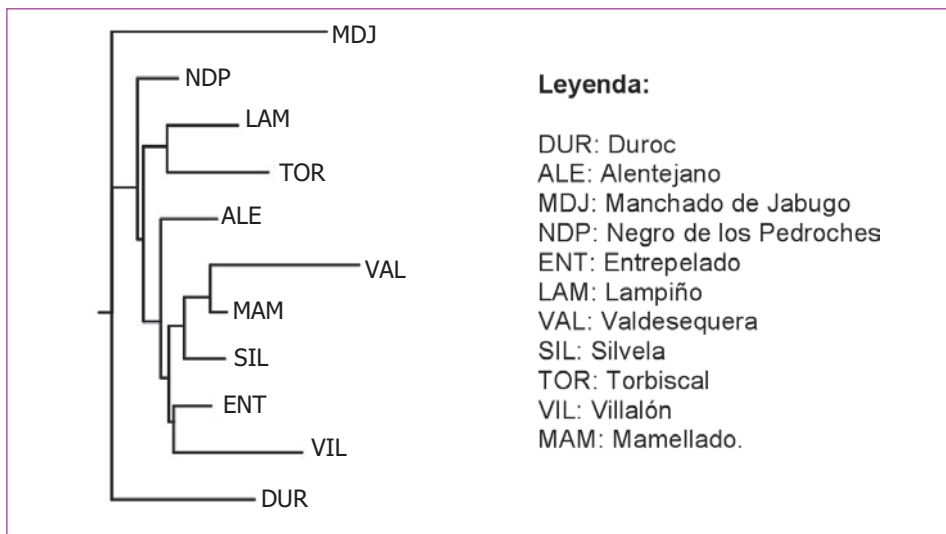
**Tabla 2. Valores de los estadísticos F de Wright entre todas las poblaciones porcinas estudiadas.**

	Valor	Intervalo de confianza (95 %)
FST	0,204	0,183 - 0,227
FIS	0,038	0,002 - 0,080
FIT	0,234	0,195 - 0,271

En la tabla 3 se exponen los valores, entre las poblaciones estudiadas, del número de migrantes por generación (Nm). Cabe destacar que el mayor valor de flujo genético encontrado ha sido entre las poblaciones Mamellado y Silvela.

La representación, en un árbol con raíz, de las distancia de Reynolds entre las poblaciones porcinas estudiadas (Figura 1) muestra una clara agrupación de los animales en tres grupos poblacionales.

**Figura 1. Cladograma que representa la matriz de distancia de Reynolds entre las estirpes del Cerdo Ibérico y el Duroc Utilizando un panel de 35 marcadores microsatélites.**



Por un lado se agrupan los animales de la raza Duroc, por otro los animales pertenecientes a la población Manchado de Jabugo y por otro lado se agrupan el resto de estirpes del Cerdo Ibérico. Esta diferenciación de la población Manchado de Jabugo con respecto al resto de estirpes del Cerdo Ibérico, ya ha sido constatada anteriormente en estudios realizados con ADN mitocondrial, habiéndose encontrado haplotipos de procedencia asiática que no están presentes en las demás estirpes del Cerdo Ibérico (Alves *et al.*, 2003). Estas poblaciones, a su vez, se distribuyen en dos subgrupos, por un lado la población Negro de los Pedroches y el resto de estirpes y líneas. Es dentro de este último subgrupo donde se aprecia una separación de las poblaciones de influencia mayoritaria de sangre Lampiña (Lampiño y Torbiscal) de las estirpes con influencia de sangre Retinta (Alentejano, Valdesequera, Mamellado, Silvela, Entrepelado y Villalón). Las poblaciones

Silvela, Mamellado y Villalón se agrupan conjuntamente dentro de este grupo ya que presentan un origen común (Clemente *et al.*, 2006), y el Valdesequera procede de Silvela. Finalmente, el Entrepelado procede de cruzamientos, utilizando el Retinto Extremeño. (Clemente *et al.*, 2006).

**Tabla 3. Matriz de porcentajes de FST (sobre la diagonal) y flujo genético (Nm) (bajo la diagonal) entre las poblaciones Ibérica y Duroc analizadas.**

Nm/F <sub>ST</sub>	DUR	ALE	MDJ	NDP	ENT	LAM	VAL	SIL	TOR	VIL	MAM
DUR	-----	22,5	30,9	16,6	19,8	23,8	35,1	24,4	27,2	31,2	23,7
ALE	0,86	-----	25,1	11,4	10,2	16,2	20,8	12,8	20,3	18,6	12,3
MDJ	0,56	0,75	-----	27,7	25,0	27,8	37,1	29,1	32,2	39,2	26,7
NDP	1,26	1,95	0,65	-----	12,5	14,5	24,7	13,6	16,1	17,3	11,2
ENT	1,01	2,21	0,75	1,75	-----	17,2	19,3	11,2	17,5	15,7	9,9
LAM	0,80	1,29	0,65	1,47	1,20	-----	28,3	15,0	16,2	21,8	17,2
VAL	0,46	0,95	0,42	0,76	1,05	0,63	-----	18,7	30,8	30,5	15,7
SIL	0,78	1,70	0,61	1,59	1,99	1,42	1,09	-----	16,6	15,9	9,6
TOR	0,67	0,98	0,53	1,30	1,18	1,29	0,56	1,25	-----	24,4	20,8
VIL	0,55	1,09	0,39	1,19	1,34	0,90	0,57	1,32	0,78	-----	18,8
MAM	0,81	1,77	0,68	1,98	2,28	1,21	1,34	2,35	0,95	1,08	-----

Leyenda: DUR: Duroc; L ALE: Alentejano; MDJ: Manchado de Jabugo; NDP: Negro de los Pedroches; ENT: Entrepelado; LAM: Lampiño; VAL: Valdesequera SIL: Silvela; TOR: Torbiscal; VIL: Villalón; MAM: Mamellado.

## CONCLUSIONES

La raza Duroc y la población Manchado de Jabugo se encuentran claramente diferenciadas tanto entre sí, como del resto de las estirpes y líneas del Cerdo Ibérico.

Las estirpes y líneas del Cerdo Ibérico constituyen un grupo bien definido mostrando, no obstante, un elevado nivel de diferenciación genética entre ellas, lo que apoya la diversidad intra-racial reconocida.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido parcialmente financiado gracias al convenio específico de colaboración firmado entre la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía y la Universidad de Córdoba, a través del grupo MERA-GEM, para la realización de un estudio genómico del Porcino Ibérico que permita la identificación de secuencias génicas distintivas para la catalogación, certificación del origen, trazabilidad y control de calidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves E, Óvilo C, Rodríguez MC & Silió L 2003 Mitochondrial DNA sequence variation and phylogenetic relationships among Iberian pigs and other domestic and wild pig populations. *Animal Genetics* 34 319–324.
- Azor, P. J., Valera, M., Gómez, M. D., Goyache, F. and Molina, A. (2007). Genetic characterization of the Spanish Trotter horse breed using microsatellite markers. *Genetics and Molecular Biology*. Vol. 30, 1, 37-42.
- Clemente, I.; Membrillo, A.; Azor, P.J.; Dorado, G.; Rodero, A.; Molina, A. (2006) Algunas consideraciones sobre las diferentes clasificaciones del tronco porcino ibérico: una propuesta integradora. *Revista Solo Cerdo Ibérico* nº 16.
- Martínez, A.; Delgado, J.V.; Rodero, A.; Vega-Pla, J.L. (2000) Genetic structure of Iberian pig breed using Microsatellites. *Animal Genetics* nº 31: 295-301.
- Reynolds J, Weir B.S.; Cockerham, C.C. (1983) Estimation on the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105: 767–779.