

Tres pesquisas sobre el origen del *Manchado de Jabugo*

E. Alves, A.I. Fernández, M.C. Rodríguez, C. Ovilo, L. Silió

Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, 28040 Madrid.

E-mail: silio@inia.es

Resumen

El origen de la población *Manchado de Jabugo* se atribuye a cruces realizados en el siglo XIX entre cerdos *Ibéricos* negros y colorados. Se supone que animales de razas *Large White* y *Berkshire* contribuyeron además a fundar esta población, que ha permanecido aislada durante décadas en algunos pueblos de la Sierra de Aracena. El objetivo de este trabajo fue rastrear posibles huellas genéticas de las variedades y razas fundadoras en la población actual, conservada por la Diputación de Huelva. El ADN mitocondrial de animales *Manchado de Jabugo* y *Large White* presenta secuencias coincidentes tanto para la región de control *D-loop*, como para los genes *Cyt b*, *ATPase8*, *ATPase6* y *NADH5*. La mutación *IGF2* g.3072G>A, ocurrida en un cromosoma asiático, se detecta en la población *Manchado*, y está presente asimismo en *Large White* y *Berkshire*. Ello concuerda con la posible contribución fundacional de ambas razas británicas, en las que se introdujeron genes de origen asiático a partir del siglo XVIII. Finalmente, esta población presenta cuatro alelos del gen *MC1R*. El alelo *MC1R*3* es característico de la variedad negra de cerdo *Ibérico* y del *Large White*. Los alelos *MC1R*6* y *MC1R*7* de la variedad colorada, y el primero también del *Berkshire*. La presencia del alelo *MC1R*4*, característico de la raza *Duroc* indica una contribución más reciente de esta otra raza foránea al germoplasma del *Manchado de Jabugo*.

Palabras clave: *Manchado de Jabugo*, ADN mitocondrial, *IGF2*, *MC1R*

Summary

Three inquiries into the origin of *Manchado de Jabugo* pigs

Animals born at the end of the XIX century from crosses between *Red* and *Black Iberian* pigs were the main founders of the black spotted population named *Manchado de Jabugo*. Pigs of the *Large White* and *Berkshire* breeds had also contributed to the foundation of this population, which was isolated for several decades in some villages of Huelva. Our objective was to verify the possible genetic traces of founder varieties and breeds in this population, preserved by the Diputación de Huelva. The mitochondrial DNA from *Manchado* and *Large White* animals shows identical sequences for the control region *D-loop*, and also for the *Cyt b*, *ATPase8*, *ATPase6* and *NADH5* genes. The *IGF2* g.3072G>A mutation, apparently occurred in an Asian chromosome, is also present in the *Manchado* population. Both results agree with the quoted founder contribution of two British breeds, because Asian germplasm was introgressed into these breeds from the XVIII century. Finally, four alleles of the *MC1R* gene are segregating in this small population. The *MC1R*3* allele is characteristic of *Black Iberian* variety and *Large White* breed. The *MC1R*6* and *MC1R*7* alleles are characteristic of *Red Iberian* pigs, and the first one of the *Berkshire* pigs. The unexpected presence of the *MC1R*4* allele, characteristic of *Duroc*, indicates the contribution of this breed to the current *Manchado* germplasm.

Key words: *Manchado de Jabugo*, mitochondrial DNA, *IGF2*, *MC1R*

Introducción

El *Manchado de Jabugo* constituye una población muy reducida de cerdos de características fenotípicas singulares, que es oficialmente considerada una variedad del cerdo *Ibérico* en peligro de extinción (BOE 299, 14-12-2007). Como tal fue recuperada hace algunos años a partir de animales dispersos en pueblos de la Sierra de Aracena, y la Diputación de Huelva conserva esta variedad andaluza en su finca experimental 'Huerto Ramírez'. Se supone que procede de cruces realizados a final del siglo XIX en los términos municipales de Jabugo y Cortegana entre *Ibéricos* negros y colorados (rubios y retintos), así como con animales de algunas razas foráneas (*Large White* y *Berkshire*). Se conocen numerosos detalles de los ganaderos y explotaciones que intervinieron en este proceso fundacional, entre otros el nombre del importador de un fundador *Large White* a la sazón Secretario de la Reina Isabel II. Los expertos en esta variedad afirman que hoy día habría desaparecido por absorción la inmensa mayoría de la aportación genética foránea, ya que el *Manchado de Jabugo* sólo se habría cruzado con otros cerdos *Ibéricos* (Forero, 1999). En un reciente estudio de diversidad genética de 55 poblaciones porcinas europeas locales e internacionales basado en microsatélites (SanCristobal et al., 2006), las variedades de cerdo *Ibérico Retinto* y *Negro Lampiño* se agrupan significativamente en un cluster (valor de bootstrap del 93%) mientras que la vinculación del *Manchado de Jabugo* con los anteriores es sensiblemente menor (75%).

En el presente trabajo hemos pretendido contrastar los diferentes aspectos de la hipótesis expuesta sobre el origen de esta población rastreando las posibles huellas genéticas de las variedades y razas fundadoras en la población actual, así como la

eventual introgresión posterior de otras razas foráneas. Para ello abordamos una triple pesquisa utilizando como marcadores genéticos ADN mitocondrial y dos genes autosómicos útiles en la caracterización de razas porcinas: *IGF2* (Yang et al., 2006; Ojeda et al., 2008) y *MC1R* (Kijas et al., 1998 y 2001).

Material y métodos

Amplificación y secuenciación de genes mitocondriales

Para la secuenciación de los genes mitocondriales *ATPasa6*, *ATPasa8* y *NADH5* se utilizó el ADN extraído a partir de muestras de sangre de un cerdo *Ibérico Torbiscal*, un *Manchado de Jabugo* y un *Large White*. Los detalles de los cebadores utilizados para amplificar cada una de las regiones y las correspondientes condiciones se encuentran descritos en Fernández et al. (2008).

Genotipado de SNPs de genes *IGF2* y *MC1R*

El genotipado de la mutación *IGF2:g.3072G >A* se realizó en un equipo PSQ HS 96 (pyrosequencing AB, Uppsala, Suecia) de acuerdo con el protocolo descrito por Van Laere et al. (2003). Se genotiparon 19 animales *Manchado de Jabugo* de la finca experimental 'Huerto Ramírez', así como 152 *Duroc*, 31 *Large White*, un *Berkshire* y 170 *Ibéricos* de ganaderías asociadas a AECERIBER: 42 *Negros Lampiños*, 60 *Retintos* y 68 de otras variedades. El genotipado de los alelos del gen *MC1R* se realizó, de acuerdo con el protocolo descrito por Fernández et al. (2004), en 64 *Duroc*, 14 *Manchado de Jabugo* y 180 cerdos *Ibéricos* de ganaderías asociadas a AECERIBER (62 *Negros Lampiños*, 50 *Retintos* y 68 de otras variedades).

Resultados y Discusión

Primera pesquisa: el rastro del Large White en el ADN mitocondrial

Hace algunos años, un análisis de las relaciones filogenéticas entre poblaciones de cerdos domésticos y jabalíes basado en las regiones mitocondriales *D-loop* y *Cyt b* nos mostró que los 14 haplotipos identificados en las variedades tradicionales de cerdos Ibéricos podían adscribirse al denominado tipo mitocondrial europeo, mientras que el haplotipo encontrado en el *Manchado de Jabugo* correspondía al tipo mitocondrial asiático (Alves et al., 2003). Curiosamente la secuencia obtenida para estas dos regiones era coincidente en sus 1847 pb a la encontrada en el mismo estudio en un cerdo *Large White*. Los resultados de secuenciación de los genes *ATPasa8* (204 pb), *ATPasa6* (681 pb) y

NADH5 (1350 pb) obtenidos en este trabajo permiten extender a un total de 4082 pb la plena coincidencia entre las secuencias mitocondriales de procedencia *Large White* y *Manchado de Jabugo* (tabla 1). Esta secuencia compartida presenta un total de 62 SNP respecto a la secuencia correspondiente de un animal *Ibérico Torbiscal* tomado como referencia. Este resultado confirma la contribución a la formación del *Manchado de Jabugo* de al menos una cerda *Large White*, cuyo genotipo mitocondrial se ha conservado hasta la fecha por vía matrilineal.

Segunda pesquisa: mutación *IGF2* g.3072G>A y contribución de razas foráneas

Trabajos recientemente realizados sobre la mutación *IGF2* g.3072G>A indican que surgió en cerdos asiáticos después de su domesticación, habiéndose posteriormente expan-

Tabla 1. Posiciones polimórficas en secuencias mitocondriales de *Ibérico* (IB) *Manchado de Jabugo* (MJ) y *Large White* (LW).

Table 1. Mitochondrial sequences polymorphisms of *Ibérico* (IB), *Manchado de Jabugo* (MJ) and *Large White* (LW).

	Cyt-B (1140 pb)														D-Loop (707 pb)																							
Posiciones	14311	14371	14407	14431	14467	14707	14719	14857	15004	15038	15040	15043	15047	15104	15202	15238	15545	15546	15567	15573	15581	15589	15594	15617	15677	15715	15716	15730	15742	15826	15841	15888	16011	16128	16140	16142		
EU117375																																						
IB1	A	T	T	A	T	C	A	A	T	T	G	C	G	G	G	C	T	A	G	C	C	C	A	T	T	T	C	A	C	C	T	C	A	G	G	G		
MJ	G	C	C	G	C	T	G	G	C	C	A	T	A	A	A	T	C	G	A	_	T	T	G	C	C	C	T	G	T	T	C	T	G	G	G	G		
LW1	G	C	C	G	C	T	G	G	C	C	A	T	A	A	A	T	C	G	A	_	T	T	G	C	C	C	T	G	T	T	C	T	G	G	G	G		

	ATPasa8 (204 pb)					ATPasa6 (681 pb)					NADH5 (1350 pb)																
Posiciones	07804	07902	07903	07971	07980	07998	08091	08118	08181	08299	08498	08535	08583	12584	12743	12955	12959	13059	13145	13307	13385	13484	13558	13585	13693	13744	
EU117375																											
IB1	C	T	T	T	C	C	T	A	C	T	A	T	A	T	C	T	T	A	T	C	A	C	C	T	C	G	
MJ	T	C	C	C	T	T	A	G	T	C	G	C	G	C	T	C	C	C	C	A	G	T	T	C	T	A	
LW1	T	C	C	C	T	T	A	G	T	C	G	C	G	C	T	C	C	C	C	A	G	T	T	C	T	A	

dido a la mayor parte de las razas internacionales a través del conocido proceso de introgresión de genes asiáticos, primero a las razas británicas y posteriormente a otras europeas y americanas (Yang et al., 2006; Ojeda et al., 2008). Los resultados del genotipado de esta mutación en las poblaciones objeto del presente estudio se presentan en la tabla 2. El alelo *IGF2* g.3072A está presente con baja frecuencia en el *Manchado de Jabugo*, y con frecuencias intermedia y alta en *Large White* y *Duroc*, respectivamente. El único *Berkshire* genotipado resultó ser heterocigoto para este polimorfismo. El alelo *IGF2* g.3072A no se detectó en ninguna de las ganaderías de origen Ibérico mejor establecido (*Torbiscal*, *Negros Lampiños* y algunos *Retintos*), identificándose en algunos animales de ganaderías cuyo control es más reciente.

Ojeda et al. (2008) analizaron 34 SNPs de este gen en individuos de estas y otras poblaciones. El haplotipo identificado en el *Manchado de Jabugo*, que incluye la mutación *IGF2* g.3072G>A presenta una alta similitud con el encontrado en una raza local china, pero no coincide con ninguno de los determinados en cerdos actuales de las razas *Large White*, *Berkshire* y *Duroc*. Sin embargo, cabe suponer que la migración de esta mutación desde China a la Sierra de Aracena debió tener lugar a través de alguna de estas razas foráneas.

Tercera pesquisa: alelos del gen de color *MC1R* y contribución de otras razas

Pese a su reducido censo y prolongado aislamiento, el *Manchado de Jabugo* presenta nada menos que cuatro alelos del gen *MC1R* (tabla 3). El alelo *MC1R*3* es carac-

Tabla 2. Frecuencia de los alelos *IGF2* g.3072 en *Manchado* y otras razas
Table 2. *IGF2* g.3072 alleles frequencies in *Manchado* and other breeds

Alelo	<i>Manchado</i> (n = 19)	Ibérico			<i>Duroc</i> (n = 152)	<i>Large White</i> (n = 31)
		<i>Negro Lampiño</i> (n = 42)	<i>Retinto</i> (n = 60)	<i>Otros</i> (n = 68)		
<i>IGF2</i> A	0.05	0.00	0.03	0.01	0.85	0.50
<i>IGF2</i> G	0.95	1.00	0.97	0.99	0.15	0.50

Tabla 3. Frecuencia de los alelos *MC1R* en *Manchado* y otras razas
Table 3. *MC1R* alleles frequencies in *Manchado* and other breeds

Alelo	<i>Manchado</i> (n = 14)	Ibérico			<i>Duroc</i> (n = 64)
		<i>Negro Lampiño</i> (n = 62)	<i>Retinto</i> (n = 50)	<i>Otros</i> (n = 58)	
<i>MC1R*3</i>	0.04	0.96	0.04	0.09	0.00
<i>MC1R*4</i>	0.07	0.00	0.00	0.00	1.00
<i>MC1R*6</i>	0.85	0.04	0.65	0.64	0.00
<i>MC1R*7</i>	0.04	0.00	0.31	0.27	0.00

terístico de los *Ibéricos Negro Lampiños* y del *Large White*. La presencia del alelo *MC1R*4*, exclusivo de la raza *Duroc*, resulta indicativo de una contribución de esta raza que debe haberse producido a partir de 1960, año en que esta raza americana llegó a España.

Los alelos *MC1R*6* y *MC1R*7*, característicos de los *Ibéricos Retintos*, se definen por la presencia de una inserción CC en la posición 896 del gen, que da lugar a una proteína no funcional, que inhibe la síntesis de eumelanina y causa el color colorado. El alelo *MC1R*6* presenta además la mutación *MC1R* g.1197G>A, y se encuentra fijado en la raza *Berkshire*. Su presencia en el *Manchado de Jabugo* sería también compatible con la contribución fundacional de esta raza británica. El patrón de color del *Manchado* (manchas negras netas o difuminadas sobre capa colorada o blanca sucia) es un argumento que opera a favor del origen *Berkshire* del alelo colorado *MC1R*6*. Kijas et al. (2001) al analizar el ARN extraído de piel de cerdos *Berkshire* (homocigotos *MC1R*6* / *MC1R*6*), observaron que se ha eliminado la inserción CC por reversión somática y restablecido el fenotipo negro. La capa negra del *Berkshire* sería realmente una gran mancha, generada por la combinación de reversión somática y selección a favor del color uniforme. En todo caso, la explicación del patrón de color del *Manchado* requiere la intervención de otros genes, primordialmente el *KIT*, y conllevaría pesquisas adicionales.

Agradecimientos

Los autores dan las gracias a Javier Forero y Manuel Cumbreiras, responsables de la conservación del *Manchado de Jabugo* en la Diputación de Huelva, que nos proporcionaron amablemente muestras biológicas de sus animales. Asimismo agradecen la ayuda

técnica de Nines López y Rita Benítez. El trabajo se financió en el marco del Proyecto INIA RZ03-010.

Bibliografía

- 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. *Anim. Genet.*, 34, 319-324.
- Fernández A, Fabuel E, Alves E, Rodríguez C, Silió L, Óvilo C, 2004. DNA tests based on coat colour genes for authentication of the raw material of meat products from Iberian pigs. *J. Sci. Food Agric.*, 84, 1855-1860.
- Fernández AI, Alves E, Fernández A, de Pedro E, López-García MA, Óvilo C, Rodríguez MC, Silió L, 2008. Mitochondrial genome polymorphisms associated with *longissimus* muscle composition in Iberian pigs. *J. Anim. Sci.* 1910. 0:jas.2007-0568v1. doi:10.2527/jas.2007-0568.
- Forero FJ, 1999. Estudio comparativo de cinco estirpes de cerdo ibérico. Diputación Provincial de Huelva, Área de Fomento, 254 pp.
- Kijas JHM, Wales R, Törnsten A, Chardon P, Moller M, Andersson L, 1998. Melanocortin receptor 1 (*MC1R*) mutations and coat color in pigs. *Genetics*, 150, 1177-1185.
- Kijas JHM, Moller M, Plastow G, Andersson L, 2001. A frameshift mutation in *MC1R* and a high frequency of somatic reversions cause black spotting in pigs. *Genetics*, 158, 779-785.
- Ojeda A, Huang LS, Ren J, Angiolillo A, Cho IC, Soto H, Lemús-Flores C, Makuza SM, Folch JM, Pérez-Enciso M, 2008. Selection in the making: A worldwide survey of haplotypic diversity around a causative mutation in porcine *IGF2*. *Genetics*, 178, 1639-1652.
- SanCristobal M, Chevalet C, Haley CS, Joosten R, Rattink AP et al., 2006. Genetic diversity within and between European pig breeds using microsatellite markers. *Anim. Genet.*, 37, 187-198.

Van Laere AS, Nguyen M, Braunschweig M, Nezer C, Collette C *et al.*, 2003. A regulatory mutation in *IGF2* causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature*, 425, 832-836.

Yang GC, Ren J, Guo YM, Ding NS, Chen CY, Huang LS, 2006. Genetic evidence for the origin of an IGF2 quantitative trait nucleotide in Chinese pigs. *Anim. Genet.*, 37, 179-180.

(Aceptado para publicación el 28 de abril de 2008)