

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL CERDO PELÓN MEXICANO MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES

GENETIC CHARACTERIZATION OF THE MEXICAN HAIR-LESS PIG BY MEANS OF MOLECULAR MARKERS

Canul, S.M.¹, V.A. Sierra¹, M.A. Martínez², O.J. Ortiz¹, J.V. Delgado², J.L. Vega-Pla³ y
G.F. Pérez¹

¹Unidad de Posgrado. Instituto Tecnológico Agropecuario N° 2 (ITA). Antigua carretera Mérida-Motul km 16.3 Conkal. Yucatán. AP 53, CP 97100, Mérida. Yucatán. México. E-mail ade_solis44@hotmail.com

²Unidad de Veterinaria. Departamento de Genética (Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba). Carretera Madrid-Cádiz km 396. CP 14071 Córdoba. España.

³Laboratorio de Genética Molecular. Servicio de Cría Caballar. Apartado Oficial Sucursal 2. 14071 Córdoba. España.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Microsatélites. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

ADDITIONAL KEYWORDS

Microsatellites. Polymerase chain reaction (PCR).

RESUMEN

Desde tiempos atrás al Cerdo Pelón Mexicano se le ha considerado como un biotipo no mejorado y sin atributos comerciales, no obstante se carece de información sobre la genética de sus poblaciones. En este trabajo se pretende determinar la variabilidad genética que existe en la población de cerdos del biotipo Pelón que se encuentra en las áreas rurales del estado Mexicano de Yucatán, así como en la población perteneciente al centro de conservación genética que se tiene para este biotipo en el Instituto Tecnológico Agropecuario N° 2. En la fase de campo se obtuvieron 102 muestras (69 de sangre y 33 de pelo) en ambas poblaciones. En la fase de laboratorio se extrajo el ADN de cada una de las muestras por la técnica del Chelex y fueron amplificadas por medio de la reacción en cadena de la polimerasa, para estudiar 26 microsatélites recomendados por la FAO/ISAG para estudios de diversidad genética en porcinos. Se analizó el

número de alelos, las frecuencias alélicas, la heterocigosidad (Genepop versión 3,1c) y el contenido de información polimórfica (PIC). Se observó que en los animales procedentes del estado de Yucatán todos los *loci* fueron polimórficos, con un promedio de 7,07; también existen 2 alelos que son homocigotos para dos *locis* diferentes (S0355, S0227). En la población de animales procedentes del centro de rescate la mayoría de los *loci* fueron polimórficos a excepción del S0355 y S0215 que resultaron homocigotos, con un promedio de 3,65 alelos. Así mismo la heterocigosidad y el PIC reflejan el polimorfismo detectado en la mayoría de los *loci* en ambas poblaciones. Estos resultados son similares a los de otros autores en diferentes variedades de cerdo Ibérico. La población de cerdos pelones del estado de Yucatán es una fuente importante de variabilidad genética que puede ser de utilidad en un futuro inmediato.

Arch. Zootec. 54: 267-272. 2005.

SUMMARY

Long time ago the Mexican Hair-less pig has been considered as a not improved and not valuable ecotype, nevertheless there are few information about the genetics of their populations. In this work we are determining the genetic variability that could exist in the population of Hair-less pigs existing in the rural areas of the Mexican state of Yucatan, as well as in the population of animals, belonging to the center of genetic conservation of the Agricultural Technological Institute N.2. The experiment was divided in two phases, one on the field and another in the laboratory. On one hand, 102 samples were obtained (69 of blood and 33 of hair) from both populations. In the laboratory the DNA was extracted and was amplified by means of the Polimerase Chain Reaction to study 26 microsatellites recommended by the FAO/ISAG for studies of genetic diversity. The alleles number was analyzed, the frequencies alleles, the heterozygosity (Genepop version programs 3.1c) and the content of polymorphic information (PIC). We observe as in the population coming from the state of Yucatan all the loci were polymorphic, with an average of 7,07 alleles. We also observe that the loci S0355, S0227 are homozygotic. In the population of animals coming from the rescue center most of the loci were polymorphic with the exception of the S0355 and S0215 that were homozygotic, with an alleles average of 3,65. The PIC also reflect the polymorphism detected in most of the locus in both populations. These results are similar to those obtained with different varieties of Iberian pig. According to this, we can consider that the population of hair-less pigs in the state of Yucatan represents a source of genetic variability that could be of utility in the future.

néticos del mundo han sido categorizados con un alto riesgo de extinción (FAO, 2000). El cerdo Pelón Mexicano en Yucatán no es la excepción ya que en las últimas tres décadas se ha mezclado con razas mejoradas de cerdos (Flores, 1970; Anderson *et al.*, 1999). Este recurso es considerado un genotipo no mejorado y sin atributos comerciales, no obstante, poco se sabe sobre sus niveles existentes de diversidad genética, ya que es probable que éste posea características que le confieran su rusticidad, presentando de esta manera mayor ventaja frente a otro tipo de razas. Así mismo, puede ser un recurso genético valioso para mejorar variedades comerciales que se deseen introducir a condiciones tropicales, bien a través de cruzamientos con razas sintéticas o selección en razas puras (Castellanos y Gómez, 1984). La presión de selección intensa que se ha ejercido sobre las razas selectas indican que la variabilidad genética ha disminuido notablemente (Fuji *et al.*, 1991). En este sentido, se destaca el presente estudio, ya que podría representar un reservorio de diversidad genética pudiendo enriquecer en el futuro el germoplasma comercial del cerdo; por todo lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar genéticamente las poblaciones de cerdo Pelón encontradas en el estado de Yucatán mediante la aplicación de marcadores moleculares tipo microsatélites.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, alrededor del 35 p.100 de todos los recursos zooge-

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó de abril de 2002 a marzo de 2003, y se dividió

Archivos de zootecnia vol. 54, núm. 206-207, p. 268.

VARIABILIDAD GENÉTICA DEL CERDO PELÓN

en dos fases, una de campo y otra de laboratorio. En la primera fase se obtuvieron muestras de sangre y pelo de 58 cerdos machos y hembras de diferentes edades y provenientes de diferentes poblaciones rurales del estado de Yucatán, a los que se denominó población 1 (P1). Asimismo, se obtuvieron 43 muestras de cerdos que conformaron el centro de rescate del Instituto Tecnológico Agropecuario No 2, y se le denominó población 2 (P2). Para obtener las muestras de sangre, se recolectaron 3 ml de la vena cava interna del animal con la ayuda de un vacutainer y tubos con EDTA k_3 como agente anticoagulante, se trasladaron en una nevera con anticongelantes al laboratorio de genética molecular del Departamento de Apicultura de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán; en los cerdos en los que no fue posible recolectar las muestras de sangre se recolectaron muestras de pelo, tirando fuertemente con los dedos pulgar e índice se procuró extraer el bulbo piloso de aproximadamente 40 pelos por cerdo, se conservaron en bolsa de papel a temperatura ambiente hasta el momento de ser procesadas. La segunda fase se realizó en el Laboratorio de Genética de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba, España, donde se obtuvo el ADN de 101 muestras, 32 de pelo y 69 de sangre, según la metodología descrita por Walsh (1991) y Martínez (2001). Se estudiaron los microsatélites recomendados por la FAO/ISAG para estudios de diversidad genética en porcinos (FAO, 1998). Los microsatélites fueron amplificados a través de la reacción en cadena de la polimerasa

(PCR). Para realizar la separación por tamaño de los fragmentos obtenidos mediante la PCR se sometieron a una electroforesis en gel de poliacrilamida en un secuenciador automático AB1 Prism 373 Stretch, siguiendo el protocolo propuesto por Martínez (2001). Con el programa Genescan Analysis se analizaron los datos recogidos del secuenciador, el programa Genotyper analizó las gráficas de las bandas obtenidas con el programa Genescan y se identificó cada uno de los alelos presentes en los microsatélites. El análisis estadístico consistió en obtener el número de alelos presentes en cada muestra, se realizó el cálculo de las frecuencias alélicas con el programa estadístico GENEPOP versión 3.1 (Raymond y Rousset, 1995). También se pudo determinar el índice de heterocigosidad y el contenido de información polimórfica (PIC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

NÚMERO DE ALELOS DETECTADOS

En la P1 todos los *locus* fueron polimórficos, el número de alelos detectados varió desde tres, para el *locus* S0227, hasta 15 para el CGA; los *loci* que resultaron con 10 alelos fueron el S0005, S0068, SW240 y SW936, siendo los más significativos en cuanto a cantidad de alelos se refiere. De los 26 *loci* estudiados 20 de ellos (S0002, S0226, S0178, SW122, SW857, S0155, S0215, S0386, SW911, S0101, IGFI, S0225, SW632, SW24, SW72, S0026, S0090, SW951, S0228, S0355) presentaron entre 9 y 4 alelos, siendo el promedio de 7,0769. En cuanto a la P2 la mayoría de los *loci* fueron polimór-

ficos a excepción de los S0355 y S0215, que resultaron monomórficos; el número de alelos detectados varió desde dos para los *loci* S0225, SW632, S0227 y S0026, hasta nueve para el *locus* S0005. En esta población los *loci* S0005, S0002, IGFI, S0068, SW122 y SW911, resultaron con más alelos detectados, sin embargo el promedio de alelos disminuyó (3,6535) con respecto a la P1.

FRECUENCIAS ALÉLICAS

En la **tabla I** se observan los alelos que resultaron con la frecuencia más alta por *locus*.

Como se puede observar en la **tabla I** existen algunos *loci* (S005, S0068, SW936, SW122, IGFI, S0155, S0386, S0101, S0026) en los que el alelo más frecuente es diferente en ambas poblaciones estudiadas, por lo que podría ser el primer indicio para considerarse muy informativos si se quisieran realizar estudios entre poblaciones del cerdo Pelón; sin embargo, otros alelos son poco informativos, por ejemplo S0002, S0215, S0225, SW72, pero estos mismos *loci* pueden resultar muy informativos si se quisiera comparar al cerdo Pelón con otras razas. También se puede observar que el alelo C es monomórfico en el microsatélite S0355 para la P2 y con una frecuencia elevada para la P1. El alelo M es monomórfico para el microsatélite S0215 en la P2 y con una frecuencia elevada para la P1. El alelo K es monomórfico en el microsatélite S0227 en la P1 y con una frecuencia elevada para la P2. El alelo que más se observó para la mayoría de los *loci* fue el alelo M. Se puede apreciar en ambas poblaciones estudiadas como la mayoría de los *loci* resultaron polimórficos, a excepción

del *locus* S0227 en la P1, y de los *loci* S0355, S0215 y SW632 en la P2, resultados que concuerdan con los que obtuvo Martínez (2001) en las variedades del cerdo Ibérico. Los alelos M (SW122), L (S0226), M (S0215), M

Tabla I. Frecuencias alélicas encontradas por locus y población de cerdos. (Frequency of alleles found by locus and pig population).

Locus	Alelo	P1	n	Alelo	P2	n
CGA	T	0,15	(45)	T	0,51	(43)
S0005	a	0,22	(34)	X	0,41	(41)
S0068	R	0,29	(55)	X	0,48	(43)
S0002	M	0,33	(52)	M	0,57	(43)
SW240	M	0,22	(58)	T	0,58	(37)
SW936	Q	0,37	(58)	T	0,87	(43)
S0226	L	0,44	(58)	L	0,78	(43)
S0178	L	0,37	(52)	L	0,71	(43)
SW122	M	0,41	(57)	M	0,52	(42)
SW857	L	0,47	(55)	L	0,53	(43)
IGF1	M	0,46	(58)	L	0,31	(42)
S0155	K	0,23	(58)	M	0,49	(43)
S0215	M	0,86	(53)	M	1,00	(38)
S0386	P	0,37	(53)	K	0,56	(33)
SW911	P	0,45	(56)	P	0,74	(43)
S0101	M	0,70	(57)	L	0,50	(43)
S0225	M	0,71	(58)	M	0,95	(43)
SW72	H	0,53	(58)	H	0,91	(43)
SW24	P	0,52	(56)	P	0,61	(41)
SW632	O	0,53	(58)	O	0,98	(43)
S0026	M	0,58	(58)	P	0,57	(41)
S0090	M	0,38	(52)	M	0,69	(43)
SW951	M	0,77	(58)	M	0,57	(43)
S0228	M	0,77	(58)	M	0,55	(43)
S0355	C	0,87	(43)	C	1,00	(43)
S0227	K	0,97	(58)	K	0,94	(43)

P1= Población de cerdos procedentes del estado de Yucatán; P2= población de cerdos pertenecientes al centro de rescate y conservación del ITA No. 2; n= número de muestras analizadas por cada población.

VARIABILIDAD GENÉTICA DEL CERDO PELÓN

(S0225), H (SW72), P (SW24), O (SW632), M (S0090), M (S0951), M (S0228), son los que más se observaron tanto en la P1 como en la P2, esto concuerda con el estudio sobre once variedades de cerdo Ibérico y una raza comercial, realizado por Martínez, (2001) donde los alelos que más se observan son iguales en los mismos *loci*; así mismo los alelos M (IGF1), M (S0101) y P (S0026), obtenidos en la P1, y el alelo K (S0158) en la P2 concuerdan con los resultados de Martínez (2001), por ello es necesaria la realización de otros estudios donde se incluya al cerdo Ibérico y otras razas que le dieron origen al cerdo Pelón mexicano, para comparar sus frecuencias alélicas (Flores,1970). El alelo T del *locus* CGA podría ser representativo del cerdo Pelón Mexicano ya que está presente en ambas poblaciones y no es frecuente en las poblaciones de cerdo Ibérico. Aunque para comprobar esto se tendrían que realizar estudios con otras razas.

PROMEDIO DE ALELOS Y HETEROCIGOSIDADES MEDIAS POR MARCADOR

El promedio de alelos en cada población nos indica en cierta manera la variabilidad genética de las poblaciones, que en este caso osciló de 7,07 para la P1 a 3,65 para la P2. Otra forma de apreciar la diversidad genética para un determinado panel de marcadores, es mediante la proporción de individuos heterocigotos presentes o heterocigosidad media. En la **tabla II** se recogen los valores medios de heterocigosidades en los tres niveles de heterocigosidades; los valores más bajos son para la población del centro de rescate (P2).

Los valores de la heterocigosidad observada pueden diferir de los valores de la heterocigosidad esperada y calculada (obtenidos a partir de las frecuencias alélicas, ya que se supone que existe un equilibrio de Hardy-Weinberg), pero no siempre es así, sobre todo cuando se trata de poblaciones animales sometidas a selección. Cuando se detectan estas diferencias entre la heterocigosidad media observada y la heterocigosidad calculada y esperada, quiere decir que la muestra de la población está desviada, bien por efectos de consanguinidad o por el tamaño reducido de la muestra. La corrección del sesgo producido por el tamaño de la muestra (heterocigosidad corregida) deja ver su efecto en las variedades con pocos individuos muestreados, no viéndose afectadas aquellas en las que el tamaño de la muestra es mayor. En general se considera que un nivel de heterocigosidad

Tabla II. Promedio de alelos y heterocigosidades encontrados en cerdos Pelón Mexicano. (Average of alleles and heterozygosity values found in Mexican Hairless pig).

Población	MA	MHE	MHC	MHO
P1	7,0769	0,6353	0,6413	0,4655
P2	3,6538	0,4257	0,4309	0,4172

P1= Población de cerdos procedentes del estado de Yucatán; P2= población de cerdos pertenecientes al centro de rescate y conservación del ITA N° 2; MA (Promedio de alelos); MHE (media de la heterocigosidad esperada); MHC (media de la heterocigosidad calculada); MHO (media de la heterocigosidad observada).

media superior a 0,5 indica que la batería de microsatélites empleada es aceptablemente informativa en estudios de caracterización genética.

CONCLUSIONES

El promedio de alelos, la media de la heterocigosidad calculada y corregida, así como las frecuencias alélicas encontradas, nos indican que existe variabilidad genética en ambas poblaciones de estudio, aunque también este último parámetro nos permite observar que el *locus* S00227 para los cerdos de

las áreas rurales de Yucatán y los *loci* S0355, S0215, y 632 para los cerdos del centro de rescate se encuentran fijos. También los *loci* S005, S0068, SW936, SW936, SW122, IGF1, S0155, S0386, S0101 y S026, son los más adecuados para estudios de comparación en cerdo Pelón, y S0002, S0215, S0225 y Sw72 serían los mejores para comparar al cerdo Pelón con otras razas de cerdos. Existen *loci* que se encontraron en este estudio y que existen en el cerdo Ibérico, situación que resulta interesante para estudios futuros sobre distancias genéticas entre estas razas.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, S., N. Ferráes y T. Rivera. 1999. La población de cerdo Criollo en Yucatán, México: Estado e impacto genético. En: Memorias del seminario internacional sobre Agrodiversidad campesina. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, Méx. p: 257-266.
- Castellanos, A. y R. Gómez. 1984. Retrospectiva y perspectiva sobre la raza de cerdos Pelón Mexicano. *Porcina*, 91: 17-41.
- FAO. 1998. Secondary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans: Management of small population at risk, FAO. Rome.
- FAO. 2000. Domestic Animal Diversity Information System: FAO, Rome, <<http://www.fao.org7dad-is7>>. Consultado diciembre de 2002.
- Flores, J.A. 1970. Síntesis histórica y breve análisis de la especie porcina en la República Mexicana. El libro azul para el médico veterinario. Química Hoechst de México.
- Fuji, J., K. Otsu, F. Zorzato, V. Khanna, K. Weiler, P. Brien and D. Mac Lennan. 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 253: 448-451.
- Martínez, M.A. 2001. Caracterización genética del cerdo Ibérico mediante marcadores moleculares. Tesis doctoral. Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. p: 5-161.
- Raymond, M. and F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 3.1): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.*, 86: 248-249.
- Walsh, P.S., D. Metzger and R. Higuchi. 1991. Chlex®100 as medium for simple extracción de DNA for PCR-based typing from forensic material. *Bitechniques*, 10: 506-513.

