

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DEL CERDO NEGRO CANARIO CON MICROSATÉLITES DE ADN

STUDY OF THE GENETIC DIVERSITY OF THE CANARY BLACK PIG USING DNAMICROSATELLITES

Martínez, A.M.*¹, J. Quiroz², J.R. Marques³ y J.V. Delgado¹

¹Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. 14014 Córdoba. España.

*Autor correspondencia: ib2mamaa@uco.es

²INIFAP. México.

³EMBRAPA Norte. Belém. Pará. Brasil.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Conservación genética. Variabilidad genética.

ADDITIONAL KEYWORDS

Genetic conservation. Genetic variability.

RESUMEN

El cerdo Negro Canario es una población ancestral de cerdos cuyo fenotipo, pauta de comportamiento y sistema productivo son muy característicos y diferentes del resto de las poblaciones porcinas existentes en España. Para verificar si estas diferencias existen también a nivel genético, se realiza un estudio con microsatélites de ADN. Se amplifican 25 marcadores recomendados por la FAO para estudios de diversidad porcina (FAO, 1998) mediante un termociclador PTC-100 (MJ Research). El análisis de los fragmentos se realiza mediante un secuenciador automático ABI 377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) y la tipificación alélica se realiza con el programa informático Genotyper 2.5. El número de alelos, heterocigosidades y Fis (Weir y Cockerham, 1984) se calculan mediante el programa Genetix versión 4.01 (Belkhir, 1999). Los resultados encontrados muestran que esta población tiene una heterocigosidad y un número de alelos más bajos que otras poblaciones porcinas de la Península Ibérica, o lo que es lo mismo, una baja variabilidad genética que podría hacer peligrar este valioso

recurso genético si no se toman medidas adecuadas para su conservación.

SUMMARY

The Canary Black Pig is an ancestral pig population with behaviour and production system very different from the other pig populations in Spain. In order to clarify if these differences are genetic too, this study has been carried out. 25 markers recommended by FAO (1998) have been amplified in a PTC-100 instrument (MJ Research). The fragment amplified have been analysed using an automatic sequencer ABI377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and the allelic typing has been done with the Genotyper 2.5 software. Allele number, heterozygosities and Fis (Weir and Cockerham, 1984) have been calculated with the Genetix 4.01 program (Belkhir, 1999). The results founded have showed that this population has lower heterozygosity and allele number than other pig populations in the Iberian Peninsula. This low genetic variability could be dangerous for this

Arch. Zootec. 56 (Sup. 1): 425-428. 2007.

precious genetic resource if appropriate conservation measures are not taken.

INTRODUCCIÓN

Según García y Capote (1982), el origen del cerdo Negro Canario es incierto aunque por la historia, la situación geográfica y las relaciones con la Península Ibérica de las Islas Canarias, sus predecesores podrían ser cerdos españoles, ingleses y africanos (citado por López *et al.*, 1992). Según la documentación histórica, el cerdo Negro Canario existe en las Islas Canarias desde hace unos 2500 años y los aborígenes utilizaban su carne como alimento, su piel para vestimenta y sus huesos para fabricar útiles y adornos.

El cerdo Negro Canario probablemente llegó a las islas a la vez que el hombre procedente del norte del continente africano. Posteriormente, con la colonización, se introdujeron otras razas procedentes de la Península Ibérica y más tarde llegaron razas británicas que fueron conformando un grupo multirracial diferenciado de los demás, muy adaptado a los variados medios existentes en la Islas Canarias (Robert *et al.*, 2000). Según estos mismos autores, el censo total del cerdo Negro Canario es de 283 ejemplares distribuidos en las islas del archipiélago, aunque se considera extinto en El Hierro y en Fuerteventura; según el catálogo oficial de las razas ganaderas de España es una raza de protección especial, o en grave peligro de extinción por en-

Tabla I. Microsatélites tipificados, número de alelos detectados, promedio de alelos, heterocigosidades esperada y observada, PIC y p-value. (Microsatellites analysed, number of alleles obtained (Na), expected heterozygosity (He), observed heterozygosity (Ho), polymorphic information content (PIC) and p-value of Hardy-Weinberg exact test).

Micro	Na	He	Ho	PIC	p-val.	Micro	Na	He	Ho	PIC	p-val.
CGA	3	0,5101	0,6087	0,4337	0,5340	SW951	2	0,0754	0,0000	0,0712	0,0196*
S0101	1	0,0000	0,0000	0,0000	-	S0228	5	0,7114	0,7407	0,6382	0,7058
S0215	1	0,0000	0,0000	0,0000	-	S0178	9	0,8093	0,7059	0,7622	0,0446*
S0355	5	0,6563	0,6000	0,5930	0,0729	S0005	4	0,3341	0,2692	0,3015	0,0098*
SW911	4	0,5507	0,4444	0,4748	0,3332	S0386	4	0,5646	0,7037	0,4865	0,1081
SW936	4	0,2411	0,2593	0,2278	1	SW72	4	0,6813	0,7037	0,6042	0,7529
S0068	6	0,7481	0,7692	0,6882	0,0290*	S0002	2	0,1197	0,1250	0,1103	1
SW632	6	0,5360	0,5926	0,4507	0,2363	SW957	3	0,5276	0,5185	0,4016	1
SW24	2	0,2919	0,3462	0,2453	1	S0026	4	0,6765	0,7037	0,5958	0,6163
S0227	4	0,4927	0,5556	0,4385	0,7755	IGF1	5	0,3594	0,2727	0,3309	0,0046*
S0225	5	0,6094	0,8148	0,5242	0,0494*	S0155	4	0,5514	0,4815	0,4897	0,6384
S0090	3	0,5770	0,4667	0,4956	0,5569	SW240	3	0,5528	0,6296	0,4440	0,5860
S0226	5	0,7179	0,6923	0,6586	0,0116*						

*Marcadores que no se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg ($p < 0,05$). (Markers deviated from Hardy-Weinberg equilibrium ($p < 0,05$)).

VARIABILIDAD GENÉTICA DEL CERDO NEGRO CANARIO

Tabla II. Número de muestras analizadas (N), número promedio de alelos (NA), heterocigosidad media esperada ($\overline{H_e}$), heterocigosidad media por recuento directo ($\overline{H_o}$) para todos los microsatélites y valores de F_{is} en el cerdo Negro Canario. (Number of samples analysed (N), average number of allele (NA), average expected heterozygosity ($\overline{H_e}$), average observed heterozygosity ($\overline{H_o}$) and inbreeding coefficient F_{is} in the Negro Canario pig).

N	NA	$\overline{H_e}$	$\overline{H_o}$	F_{is}
27	3,92	0,4758	0,4802	-0,009

contrarse en grave regresión o en trance de desaparición (Real Decreto 1682/1997). Aunque existe un programa de conservación, los resultados no son muy alentadores debido a problemas derivados del aumento de la consanguinidad. En este trabajo se realiza la caracterización genética de esta raza con microsatélites para conocer la situación genética de la población.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizan 27 muestras de pelo de las que se extrae ADN mediante el método de (Kawasaki, 1990), se amplifican 25 microsatélites mediante PCR y se analizan mediante un secuenciador automático ABI 377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). La tipificación alélica se realiza mediante los programas informáticos Genescan Analysis® 3.1.2 y Genotyper® 2.5.2 respectivamente. Se calculan las frecuencias alélicas, las heterocigosidades y el valor de F_{is} (Weir y Cockerham, 1984) mediante el programa Genetix v. 4.02 (Belkhir, 1999). Se realiza una prueba de equilibrio Hardy-Weinberg (HW) mediante el programa Genepop v. 3.1c (Raymond y Rousset, 1995),

que aplica el test exacto de Fisher usando el método en cadena de Monte Carlo Markov (Guo y Thompson, 1992). Se calcula el Contenido de Información Polimórfica (PIC) de cada microsatélite mediante la fórmula propuesta por (Botstein *et al.*, 1980).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La batería de microsatélites utilizada en este trabajo está suficientemente probada en estudios de caracterización genética de otras razas de cerdos domésticos españoles (Martínez *et al.*, 2000), europeos (Ollivier *et al.*, 2005; San Cristobal *et al.*, 2006), chinos (Li *et al.*, 2000) y americanos (Pérez *et al.*, 2004). Los valores de PIC encontrados son menores que los encontrados en las razas anteriores, al igual que sucede con los niveles de heterocigosidad esperada y observada encontrados (**tablas I y II**), que muestran la baja variabilidad genética del cerdo Negro Canario. Dos de los microsatélites empleados han resultado monomórficos en esta población y siete de ellos se encuentran desviados del equilibrio Hardy-Weinberg. El valor de F_{is} indica que esta población es muy homogénea genéticamente.

BIBLIOGRAFÍA

- Belkhir, K. 1999. Logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. In: Laboratoire Génome, Populations, Interactions, vol. CNRS UPR9060.
- Botstein, D., R.L. White, H. Skolnick and R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.*, 32: 314-331.
- FAO. 1998. Secondary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans: management of small populations at risk. FAO. Rome. Italy.
- García, M. y J.F. Capote. 1982. El Cerdo Negro Canario (descrito en la isla de La Palma). Excmo. Cabildo Insular de La Palma. 80 p.
- Guo, S.W. and E.A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics*, 48: 361-372.
- Kawasaki, E. 1990. Sample preparation from blood, cells and other fluids. In: PCR Protocols: A guide to methods and applications. Academic Press Inc. New York. pp. 146-152.
- Li, K., Y. Chen, C. Moran, B. Fan, S. Zhao and Z. Peng. 2000. Analysis of diversity and genetic relationships between four Chinese indigenous pig breeds and one Australian commercial pig breed. *Anim. Genet.*, 31: 322-325.
- López, J.L., A. Arguello, J. Capote and N. Darmanin. 1992. Contribution to the study of Black Canary pig. *Arch. Zootec.*, 41(Extra): 531-536.
- Martínez, A.M., J.V. Delgado, A. Rodero and J.L. Vega-Pla. 2000. Genetic structure of the Iberian pig breed using microsatellites. *Anim. Genet.*, 31: 295-301.
- Ollivier, L., L. Alderson, G.C. Gandini, J.L. Foulley, C.H. Halley, R. Joosten, A.P. Rattink, B. Harlizius, M.A.M. Groenen, Y. Amigues, M.Y. Boscher, G. Russell, A. Law, R. Davoli, V. Russo, D. Matassino, C. Désautés, E. Fimland, M. Bagga, J.V. Delgado, J.L. Vega-Pla, A. Martínez, M. Ramos, P. Glodek, J.N. Meyer, G. Plastow, K.W. Siggens, A.L. Archibald, D. Milan, M. San Cristobal, G. Laval, K. Hammond, R. Cardelino and C. Chevalet. 2005. An assessment of European pig diversity using molecular markers: Partitioning of diversity among breeds. *Conserv. Genet.*, 6: 729-741.
- Pérez, E., A.M. Martínez, J.V. Delgado, F. Velázquez y D. Segura. 2004. Estudio preliminar de la diferenciación genética entre las dos variedades del cerdo Criollo Cubano. *Arch. Zootec.*, 53: 359-362.
- Raymond, M. and F. Rousset. 1995. GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact test and ecumenicism. *J. Hered.*, 86: 248-249.
- Real Decreto 1682/1997 de 7 de noviembre por el que se actualiza el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España. (B.O.E. 279 de 21 noviembre de 1997).
- Robert, A., M.J. Zamorano, R. Ginés, A. Argüello, J.V. Delgado y J.L. López. 2000. Origen y estado actual del cerdo Negro Canario. *Arch. Zootec.*, 49: 291-296.
- San Cristobal, M., C. Chevalet, C.S. Halley, R. Joosten, A.P. Rattink, B. Harlizius, M.A.M. Groenen, Y. Amigues, M.Y. Bosche, G. Russell, A. Law, R. Davoli, V. Russo, C. Désautés, L. Alderson, E. Fimland, M. Bagga, J.V. Delgado, J.L. Vega-Pla, A.M. Martínez, M. Ramos, P. Glodek, J.N. Meyer, G.C. Gandini, D. Matassino, G. Plastow, K. Siggens, G. Laval, A. Archibald, D. Milan, K. Hammond and R. Cardelino. 2006. Genetic diversity within and between European pig breed using microsatellite markers. *Anim Genet.*, 37: 189-198.
- Weir, B. S. and C.C. Cockerham. 1984. Estimating F statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.