

# ANÁLISIS MITOCONDRIAL DEL JABALÍ Y DE RAZAS PORCINAS EUROPEAS, AFRICANAS Y AMERICANAS

Oscar Ramírez <sup>1</sup>, Anna Tomàs <sup>1</sup>, Alex Clop <sup>2</sup>, Ofelia Galman-Omitogun <sup>3</sup>, Stanley Marshall Makuza <sup>4</sup>, José Manuel Cadillo <sup>5</sup>, Lucía Kelly <sup>6</sup>, Miguel Pérez-Enciso <sup>1,7</sup> y Marcel Amills <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Bellaterra 08193, Spain; <sup>2</sup>Department of Genetics, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, 4000 Liège Belgium; <sup>3</sup>Department of Animal Science, Faculty of Agricultura, Obafemi Awolowo University, Ile-Ife-Nigeria; <sup>4</sup>Department of Animal Science, University of Zimbabwe, MP 67 Mount Pleasant, Harare, Zimbabwe; <sup>5</sup>Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, La Laguna 38200, Spain; <sup>6</sup>Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo 11600, Uruguay; <sup>7</sup>Institut Català de Recerca i Estudis Avançats, Barcelona, Spain.

## INTRODUCCIÓN

El jabalí (*Sus scrofa*), especie de la cual procede el cerdo doméstico, posee una distribución geográfica muy cosmopolita, que incluye la práctica totalidad de Eurasia y el norte de África. Se ha descrito un mínimo de 16 subespecies, de las cuales dos son exclusivamente europeas, dos eurasiáticas, once asiáticas y una africana (Ruvinsky & Rothschild 1998). El proceso de domesticación del cerdo en el Creciente Fértil y en China se produjo aproximadamente hace unos 9.000 años, de forma independiente y a partir de poblaciones locales de jabalíes europeas y asiáticas (Giuffra *et al.* 2000). Se ha puesto de manifiesto la existencia de una clara diferenciación entre los haplotipos mitocondriales asiáticos y europeos, habiéndose estimado entre 58.000 y 900.000 años el tiempo de divergencia (Giuffra *et al.* 2000; Okumura *et al.* 2001; Kijas & Andersson 2001; Kim *et al.* 2002; Alves *et al.* 2003). Sin embargo, se ha demostrado la existencia de haplotipos asiáticos en razas de cerdo doméstico europeas (Giuffra *et al.* 2000; Okumura *et al.* 2001; Kim *et al.* 2002; Alves *et al.* 2003; Clop *et al.* 2004). Ello probablemente se deba al proceso de introgresión de razas asiáticas que tuvo lugar durante los siglos XVIII-XIX con la finalidad de incrementar el engrasamiento y la precocidad sexual de las razas europeas. A pesar de que las razas europeas y chinas se han caracterizado a nivel mitocondrial de forma muy extensa, aún no se dispone de información sobre las razas porcinas sudamericanas y africanas. La caracterización genética de poblaciones de jabalíes eurasiáticas es también bastante limitada a pesar de su gran importancia para comprender el proceso de domesticación del cerdo. Por ejemplo, aún no se ha estudiado ninguna de las poblaciones de jabalíes localizadas en la región del Creciente Fértil a pesar de que es uno de los dos centros de domesticación del cerdo. En el trabajo que se describe a continuación hemos abordado ambas cuestiones.

## MATERIAL Y METODOS

### *Material Animal*

Se realizaron extracciones de DNA a partir de muestras tejido o de pelo correspondientes a 35 jabalíes y 86 cerdos domésticos. Los jabalíes procedían de poblaciones de España (N = 5), Bélgica (N = 11), Turquía (N = 12) y Túnez (N = 7). En cuanto al cerdo doméstico, se caracterizaron diversas razas europeas, Piétrain (N = 2), Large White (N = 2), Landrace (N = 2), Duroc (N = 1), Ibérico (N = 2), Canario (N = 9) y Mallorquín (N = 11); asiáticas, Meishan (N = 16) y Vietnamita (N = 3); sudamericanas, criollas de Perú (N = 9) y Nicaragua (N = 5) y cerdo Pampa de Uruguay (N = 7); y africanas, esto es criollas de Benin (N = 4) y Nigeria (N = 9) y la raza Mukota de Zimbabwe (N = 4). Las extracciones de DNA de pelo se realizaron mediante el protocolo descrito por Pfeiffer *et al.* (2004).

### *Análisis del DNA mitocondrial*

Se ha amplificado un fragmento de 1248 pb que abarca la totalidad del gen del citocromo B (*CytB*) mediante los dos pares de oligonucleótidos descritos por Alves *et al.* 2003. Asimismo se ha realizado la amplificación de un fragmento de 1054 pb de la región control (D-loop) mediante los primers SscDloopF 5'-CAA CCA AAA CAA GCA TTC CA-3' y SscDloopR 5'-GAT TGT GGG CGT ATG CTT AAA-3'. Ambos oligonucleótidos fueron diseñados mediante el *software* Primer 3 empleando como molde la secuencia del DNA mitocondrial porcina con número de acceso de Genbank: AJ002189. En ambos casos las condiciones de la amplificación fueron 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 μM dNTPs, 0.5 μM de cada *primer*, unos 80 ng de DNA y 0.5 U de Taq DNA polimerasa (Ecogen) en un volumen final de 20 μl. El perfil térmico fue de 94 °C-1 min, 66 °C-1 min, 72 °C-1 min durante 35 ciclos y un ciclo final de extensión a 72 °C- 10 min. Los productos amplificados fueron purificados con el Concert™ Rapid PCR Purification System (GIBCO BRL) y se realizó la secuenciación directa de los mismos mediante el ABI PRISM BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (version 3.1). Las reacciones de secuenciación se analizaron en un aparato de electroforesis capilar ABI PRISM 3730.

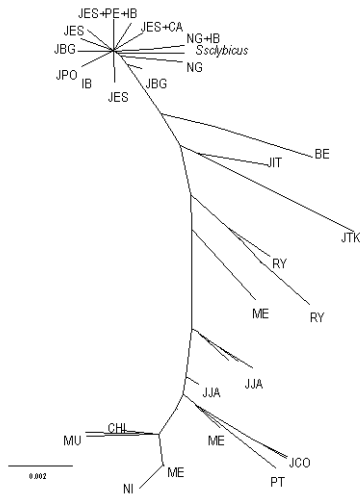
### *Análisis filogenético*

Se ha analizado un fragmento de 464 pb de la región D-loop en 102 individuos (13 de las secuencias analizadas fueron obtenidas en GenBank). Igualmente se ha analizado un fragmento de 895 pb del gen *CytB* en 126 individuos (47 secuencias fueron extraídas de Genbank).

Los árboles filogenéticos se han construido mediante el método de agrupamiento *Neighbor-Joining* (Saitou & Nei, 1987), empleando el paquete informático MEGA versión 2.1 (Kumar *et al.* 2001). El análisis se llevó a cabo empleando la distancia de Kimura de dos parámetros (Kimura 1980) y un análisis *bootstrap* con 1.000 réplicas.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los árboles filogenéticos obtenidos mediante el análisis de *CytB* y D-loop presentan una topología similar: se observa una clara separación entre haplotipos europeos y asiáticos, y asimismo, los haplotipos asiáticos presentan una mayor diversidad genética que los haplotipos europeos. Aun así, cabe destacar que en cuanto a los haplotipos europeos se diferencian claramente los cerdos de Benin (BE), así como los jabalíes italianos (JIT) y los turcos (JTK). El análisis de poblaciones turcas y tunecinas tiene un interés especial puesto que, debido a la ausencia de ganado porcino con el que hubieran podido mezclarse, puede asumirse que son descendientes de las poblaciones ancestrales de jabalí que habitaron el Creciente Fértil, uno de los dos centros geográficos del proceso de domesticación (Bruford *et al.* 2003), y el Norte de África, respectivamente. Cabe destacar que las secuencias mitocondriales de los jabalíes turcos, a diferencia de las de los jabalíes tunecinos, forman un clúster muy diferenciado y relativamente próximo al clúster de haplotipos asiáticos del que, sin embargo, no forman parte. Este hecho concuerda bien con su posición geográfica, a medio camino entre Europa y Asia. En todas las poblaciones de jabalíes analizadas se ha observado exclusivamente el haplotipo E1 descrito por Giuffra *et al.* 2000, que también es el más frecuente en razas porcinas europeas



	N	E1 (TGCG)	E2 (TGTG)	A1 (CATA)	A2 (CATG)	A3 (TATG)
JTZ	7	7	-	-	-	-
JTK	12	12	-	-	-	-
JBG	12	12	-	-	-	-
JES	6	6	-	-	-	-
NG	10	10	-	-	-	-
MU	4	1	-	2	-	1
BE	3	3	-	-	-	-
PE	8	8	-	-	-	-
NI	6	-	-	6	-	-
UR	6	6	-	-	-	-

Tabla 1. Distribución de los haplotipos europeos (E1, E2) y asiáticos (A1, A2 y A3) descritos por Giuffra *et al.* 2000. Las abreviaturas de las poblaciones son las mismas que en la Figura 1. JTZ: Jabalí tunecino

Figura 1. Árbol filogenético NJ de las secuencias del gen *CytB* donde se muestran las principales agrupaciones entre las diferentes poblaciones de jabalíes: belga (JBG), coreana (JCO), española (JES), italiana (JIT), turca (JTK) japonesa (JJA), polaca (JPO), de las islas Ryukyu (RY) y cerdo doméstico de Perú (PE), Nicaragua (NI), Pampa de Uruguay (UR), Nigeria (NG), Benin (BE), Mukota de Zimbabwe (MU), Canario (CA), Ibérico (IB), Piétrain (PT), Meishan (ME) y otras razas chinas (CHI).

En el caso de los cerdos criollos, descendientes de las poblaciones porcinas traídas por los conquistadores españoles y portugueses a partir del s. XV, todos presentan el haplotipo europeo E1, a excepción de los nicaragüenses que presentan el A1. La elevada frecuencia del haplotipo E1 en las razas criollas concuerda con los análisis de DNA mitocondrial realizados en las distintas estirpes de cerdo Ibérico (Alves *et al.* 2003), de las cuales, probablemente, descienden. La presencia del haplotipo A1 en el cerdo nicaragüense se podría explicar por el hecho de que en la formación de esta raza hayan intervenido razas chinas, tal como se ha documentado en el cerdo Cuino de México. En el caso de las razas africanas, los cerdos de Benin y de Nigeria presentan el haplotipo E1 a pesar de que en estos últimos se ha documentado la existencia de una fuerte y reciente introgresión con razas europeas, como Large White, en las que los haplotipos asiáticos son frecuentes. En los cerdos de raza Mukota se han observado tres haplotipos diferentes E1, A1 y A3. Es probable que los haplotipos asiáticos fueran introducidos por los europeos, principalmente británicos, que llegaron al Zimbabwe actual en el siglo XIX, una vez ya finalizado el proceso de introgresión de las razas asiáticas en las razas europeas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves *et al.* 2003. *Anim. Genet.* 34: 319-324.  
 Bruford *et al.* 2003. *Nature Reviews* 4: 900-910.  
 Clop *et al.* 2004. *Genet. Sel. Evol.* 36: 97-114.  
 Giuffra *et al.* 2000. *Genetics* 154: 1785-1791.  
 Kijas *et al.* 2001. *J. Mol. Evol.* 52: 302-308.  
 Kim *et al.* 2002. *Anim. Genet.* 33:19-25.  
 Kimura. 1980. *J Mol Evol* 16: 111-120.  
 Kumar *et al.* 2001. *Bioinformatics* 17: 1244-5.  
 Pfeiffer *et al.* 2004. *Forensic Sci. Int.* 141: 149-151.  
 Ruvinsky and Rothschild. 1998. *The Genetics of the Pig*, pp.1-16.  
 Saitou and Nei. 1987. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.

Gracias a Annick Linden, Maria Misericòrdia Ramón, José Luis Noguera, Youssao AK Issaka y a Ay-Fi Safaris, por ceder muestras para este trabajo.