

# HUELLA DE MÚLTIPLES INTROGRESIONES EN EL GENOMA MITOCONDRIAL DE LOS CERDOS DE ÁFRICA ORIENTAL

Noce, A., Amills<sup>1</sup>, M., Manunza, A., Sánchez, A., Egbalsaied, S., Mercadé, A. y Masembe, C.

<sup>1</sup>Department of Animal Genetics, Center for Research in Agricultural Genomics (CSIC-IRTA-UAB-UB), Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 08193. E-mail: marcel.amills@uab.cat.

## INTRODUCCIÓN

Hasta la fecha, se sabe muy poco de los orígenes de los cerdos africanos debido a la escasez de datos arqueológicos y genéticos. Se asume que la crianza de cerdos en el Este de África coincide con la llegada de los marineros portugueses (Blench, 2000). No obstante, el análisis de la variación genética del cromosoma Y en cerdos de Kenia y Zimbawe ha evidenciado la presencia de un haplotipo que segrega a elevada frecuencia en cerdos procedentes del este de Asia y que, en cambio, está prácticamente ausente en razas comerciales Europeas (Ramírez et al., 2009). Ello sugiere que la entrada de cerdos asiáticos en el este de África ocurrió en tiempos más o menos remotos, como consecuencia del antiguo comercio entre dicha región y China o bien, más recientemente, a través de las rutas comerciales que unían Macao con Portugal. El objetivo del presente estudio consiste en caracterizar la diversidad genética de los cerdos de Uganda para obtener una perspectiva más amplia sobre los orígenes de los cerdos de África Oriental.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos recogido muestras biológicas correspondientes a 81 cerdos distribuidos en 14 regiones de Uganda. La extracción de ADN se realizó a partir de muestras de pelo y sangre usando el kit DNeasy Blood & Tissue Kit (Quiagen). Se amplificó un fragmento de 1250 pb usando dos primers (forward 5'CAA CCA AAA CAA GCA TTC CA3', reverse 5'GAT TGT GGG CGT ATG CTT AAA3') complementarios a la región mitocondrial D-loop. La reacción de purificación se hizo con el kit ExoSAP-IT PCR Cleanup (Affymetrix, Santa Clara, CA) y la secuenciación mediante el kit "Big Dye Terminator Cycle Sequencing v1.1" (Applied Biosystems). La electroforesis capilar se llevó a cabo en un equipo ABI 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems). Las secuencias resultantes fueron alineadas con el programa Multalin (Corpet, 1988) y publicadas en Genbank (GenBank accession numbers KM597073-KM597153). En los análisis filogenéticos se incluyeron también 151 secuencias adicionales de *Sus scrofa* procedentes de Europa, Indonesia, Corea, Japón, China, Tailandia, Vietnam, India, Marruecos, Túnez, Kenia y Zimbabwe. Para estudiar las relaciones genéticas entre las distintas poblaciones, se empleó el software Network 4.6 (Bandelt et al., 1999), asumiendo una ratio de transversión/transición de 3:1. Cinco cerdos Ugandeses fueron analizados con el chip porcino 60K de Illumina mediante la metodología descrita por Manunza et al. (2013). Dichos datos fueron comparados con otros previamente publicados por Manunza et al. (2013), Ai et al. (2013), Burgos-Paz et al. (2013) y Goedbloed et al. (2013). Se efectuó un control de calidad con el programa Plink 2.0 empleando los mismos parámetros utilizados por Manunza et al. (2013). También se usó Plink para construir un gráfico de escalamiento multidimensional y se llevó a cabo un análisis de estructura poblacional con el programa Admixture1.23, de acuerdo a los métodos descritos por Manunza et al. (2013).

Por otra parte, se amplificó y secuenció un fragmento del cromosoma Y correspondiente al intron1 del gen *Ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat gene, Y-linked (UTY)* en 18 verracos pertenentes a diferentes regiones de Uganda (Masaka, Bundibujjo, Luweero, Rakai, Mpigi, Lira, Gayaza, Amuru, Soroti), siguiendo el método descrito por Ramírez et al. (2009).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis median-joining network sugiere que los cerdos de África Oriental poseen un origen muy complejo, con raíces no sólo en Oriente Lejano y Occidente (Europa / África del Norte), tal como ya describió Ramírez et al. (2009), sino también en la India. Así pues, en la Figura 1 puede verse como los cerdos de Uganda y Kenia se agrupan con los cerdos indios

Teniendo en cuenta que los cerdos domésticos de India y Buthan poseen haplotipos mitocondriales que sólo comparten con los jabalíes de dichas regiones (Larson et al. 2011), nuestro resultado evidencia una introgresión directa desde la India hacia África Oriental.

A nivel mitocondrial, algunos cerdos Ugandeses también agrupan con cerdos Europeos (Figura 1). La existencia de una influencia ibérica en África oriental resultaría esperable dado que los portugueses fueron los primeros europeos en circunnavegar África y establecer una serie de puestos comerciales (Kilwa, Sofala, Mombasa, etc.) en su costa oriental (Okello 2002). Por otra parte, la segregación de haplotipos característicos de Extremo Oriente en los cerdos de Uganda, Kenya y Zimbabwe (Figura 1) tiene sentido histórico si se considera que desde el siglo XIV hasta el XVIII las rutas comerciales portuguesas conectaban China (Macao), Malasia (Malaca) y la India (Goa y Calicut) con Kenia (Malindi y Mombasa), Mozambique y otras regiones costeras de África Oriental (Guiñote, 1999). Incluso resulta posible que la introducción de material genético procedente de Extremo Oriente fuera más remota, puesto que múltiples rutas comerciales y exploratorias han recorrido el Océano Índico desde tiempos inmemoriales (Kearney, 2004).

Los resultados obtenidos mediante el chip 60K son muy consistentes con todo lo dicho anteriormente. Los análisis de escalamiento multidimensional y Admixture sugieren que el fondo genético de los cerdos ugandeses posee orígenes occidentales y asiáticos, siendo el componente occidental predominante. Aunque el número de animales analizados a nivel autosómico en este trabajo sea escaso, esta conclusión concuerda con los resultados de Ramírez et al. (2009). Desafortunadamente, no disponemos de datos de genotipado masivo de cerdos indios para investigar qué proporción del genoma de los cerdos Ugandeses posee tal origen.

Por último hemos secuenciado parcialmente el intron 1 del gen *UTY*, en 18 verracos de Uganda. Este gen contiene 2 SNPs diagnósticos que permiten diferenciar entre los dos principales linajes del cromosoma Y, éste es HY1+HY2 vs HY3 (Ramírez *et al.*, 2009). Nuestros resultados indican que en los verracos ugandeses sólo segrega el haplotipo HY1, que está ampliamente distribuido en Asia y Europa. No hemos hallado el haplotipo HY3 que se puede considerar específico de los cerdos Asiáticos y que de acuerdo a Ramírez et al. (2009) segrega a frecuencias elevadas en los cerdos de Kenia (35%) y Zimbabwe (100%). En este sentido, es probable que el impacto de la introgresión de los cerdos de Extremo Oriente en África Oriental haya sido más fuerte en Zimbabwe, donde los cerdos Mukota muestran un fenotipo similar a los cerdos chinos (Ellert, 1993).

En conclusión los cerdos de Uganda y Kenia tienen un origen muy complejo con raíces europeas, indias y del Extremo Oriente. Estos resultados son consistentes con la importancia estratégica de África oriental como punto de intersección del comercio marítimo entre Europa y Asia, una circunstancia que probablemente haya contribuido a incrementar la diversidad genética de las especies domésticas propias de esta área geográfica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

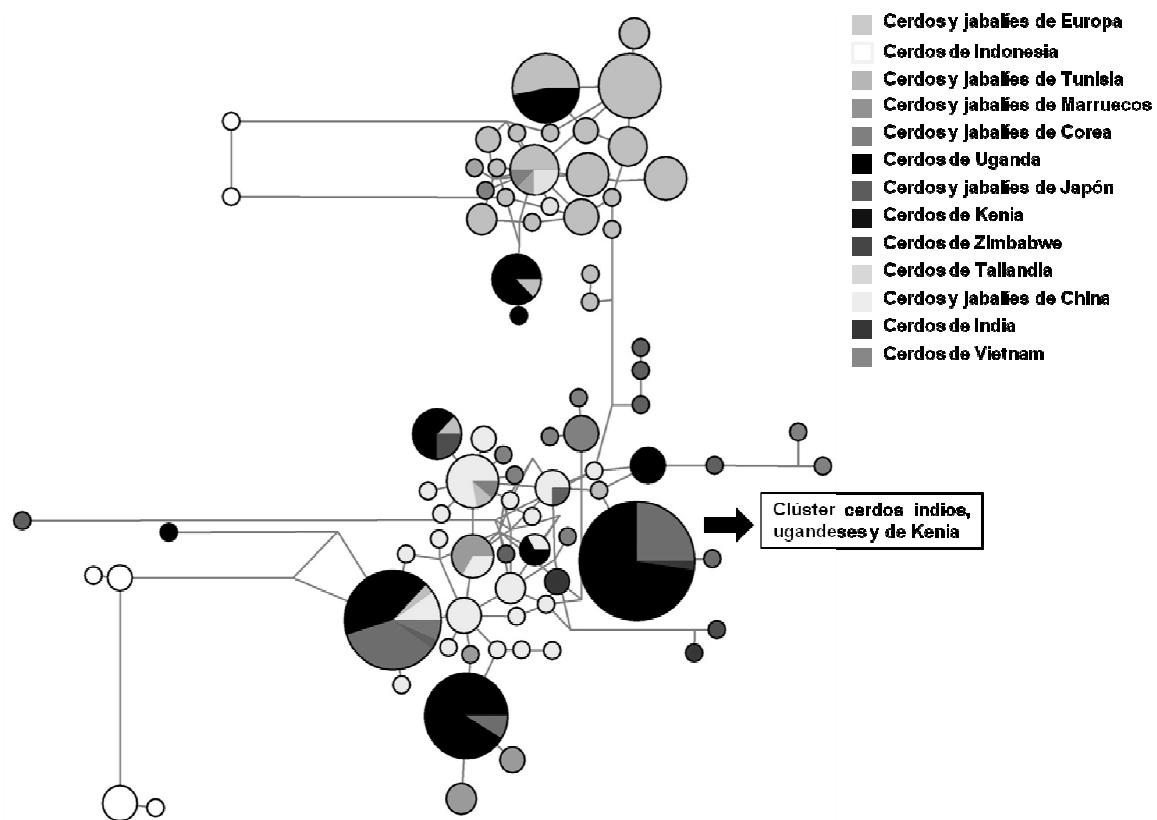
- Bandelt H.J., et al. 1999. *Mol Biol Evol* 16: 37-48.
- Blench R.M. 2000. Routledge Books. pp. 355-367.
- Burgos-Paz W. et al. 2013. *Heredity* 110: 321-30.
- Corpet F. 1988. *Nucl. Acids Res.*, 16 (22): 10881-10890.
- Ellert H. 1993. *Rivers of gold (Zambeziána)*. Mambo Press, Gweru, Zimbabwe.
- Goedbloed D.J. et al. 2013. *Mol Ecol.* 22: 856-66.
- Guinote P.J.A. 1999. *Vasco da Gama e a Índia*, vol. II, pp 7–39.
- Kearney M. 2004. *The Indian Ocean in World History (Themes in World History)*. Routledge, London, UK.
- Ai H. et al. 2013. *PLoS One* 8: e56001.
- Larson G. et al. 2011 In: *The Genetics of the Pig* pp. 14-37.
- Manunza A. et al. 2013. *PLoS One* 8: e5589.
- Okello B. 2002. *A history of East Africa*. Fountain Publishers, Kampala, Uganda.
- Ramírez O. et al. 2009. *Mol Biol Evol.* 26: 2061-72.

**Agradecimientos:** Gracias al Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca de Uganda y a la Agencia Sueca de Desarrollo Internacional por facilitar la obtención de muestras. Nuestro agradecimiento a Karl Stahl y William Burgos-Paz, por su colaboración en el proyecto.

## FOOTPRINT OF MULTIPLE INTROGRESSIONS IN THE MITOCHONDRIAL GENOME OF EAST AFRICAN PIGS

**ABSTRACT:** Our objective was to analyse the genetic diversity of pigs from Uganda and obtain a more general picture about the ancestry of East African swine. Median-joining network analysis of D-loop sequences from 81 swine from Uganda and others with diverse origins allowed us to identify Western, Indian and Far Eastern genetic signatures in the East African pigs. This result agrees well with the high frequency of zebuine alleles in cattle from East Africa. The genotyping of five Ugandan pigs with the Porcine SNP60 Beadchip agreed well with an Asian/Western mixed ancestry, while sequencing of the Y-chromosome *UTY* locus in 18 Ugandan boars revealed the segregation of a single HY1 lineage that has a cosmopolitan distribution. Our data demonstrate that pigs from East Africa have been targeted by multiple introgression events from other Western and Asian populations.

**Keywords:** East African swine, D-loop, Median-joining network, massive genotype.



**Figura 1.** Median-joining network que incluye secuencias mitocondriales de cerdos de Uganda, Europa, Indonesia, Corea, Japón, China, Tailandia, Vietnam, India, Marruecos, Túnez, Kenia y Zimbabwe.