ITEA (1998), Vol. **94A N.° 3,** 351-354

INFORMATIVIDAD DE MARCADORES MOLECULARES TIPO MICROSATÉLITE EN DOS POBLACIONES DE CERDOS DE RAZA IBÉRICA Y LANDRACE

A. Clop[*]
C. Ovilo[**]
A. Coll[*]
C. Barragán[**]
J. M. Folch[*]

[*] Unitat de Genètica i Millora
Universitat Autònoma de Barcelona
08193 Bellaterra

[**] Area de Mejora Genética Animal, CIT-INIA
28040 Madrid

España

RESUMEN

Para relacionar determinados caracteres fenotípicos de naturaleza poligénica con regiones concretas del genoma (QTL's) es necesario disponer de marcadores moleculares conocidos y posicionados que permitan detectar la existencia de desequilibrios de ligamiento. Los marcadores tipo microsatélite, por su gran abundancia, el conocimiento que existe de su posición en el genoma porcino y por su elevado polimorfismo, resultan idoneos para realizar esta aproximación. Este trabajo se ha realizado con el objetivo de seleccionar aquellos microsatélites más apropiados para un proyecto pluridisciplinar más amplio encaminado a localizar QTL's relacionados con la calidad de la carne en las razas porcinas Ibérica y Landrace. Para ello hemos tenido en cuenta su posición en el genoma y su variabilidad interpoblacional, es decir, su informatividad. Ésta ha sido calculada mediante un estadístico que tiene en cuenta las frecuencias, en una de las poblaciones, de los alelos presentes en la otra.

Palabras clave: Cerdo Ibérico, Landrace, Microsatélite, QTL, Informatividad.

SUMMARY

MICROSATELLITE MOLECULAR MARKERS INFORMATIVENESS IN TWO POPULATIONS OF PIG, THE IBERIAN AND LANDRACE PIGS

To associate some polygenic phenotypes with discrete regions of the genome (QTL's) it is necessary to have at one's disposal some known and positioned molecular markers to detect linkage disequilibrium that allow us to detect those associations. The microsatellites, due to their abundance, due to the high level of knowledgement of their position in the pig genome and due to the high polymorphism, are suitable to do this approach. This work has been done to select the appropriate microsatellites for a pluridisciplinar project to detect QTL's associated to meat quality in the Iberian pig and the Landrace pig. To manage that we bear in mind their position in the genome

and their interpopulation variability, that means, their informativity. This has been calculated by means of an stadistic based on the frequences, in one population, of the alleles in the other population.

Key words: Iberia Pig, Landrace, Microsatellite, QTL, Informativeness.

Introducción

Este trabajo forma parte de un proyecto pluridisciplinar más amplio, cuyo objetivo es caracterizar regiones del genoma responsables de las características relacionadas con la calidad de la carne en porcino (the IBMAP consortium, 1998).

Gracias al trabajo realizado en el desarrollo del mapa genético del cerdo (Sus scrofa), en el que actualmente se dispone de más de 1000 microsatélites posicionados a lo largo del genoma (ROHRER *et al.*, 1996), se pueden llevar a cabo experimentos para localizar QTL's ligados a estos marcadores.

El diseño experimental realizado se basa en un cruzamiento de tipo F2 entre ejemplares de características bien diferenciadas en cuanto a la calidad de la carne, como son las razas Ibérica y Landrace. En los animales de este cruzamiento se determinará el genotipo para algunos marcadores moleculares de tipo microsatélite y se medirá el valor fenotípico de los caracteres de calidad cárnica. La existencia en la F2 de asociaciones entre los alelos de un marcador con distintos niveles de expresión de alguno de los caracteres estudiados, nos indicará la presencia de factores genéticos, cercanos al microsatélite, responsables de las diferencias observadas entre las razas parentales en dichos caracteres de calidad.

En una primera fase de desarrollo del proyecto el objetivo más inmediato es la elección de los microsatélites, en función de su posición en el genoma y su informatividad en los cruzamientos realizados, para proceder al genotipado de los individuos de este cruzamiento.

Material y métodos

Los animales usados en este trabajo son los que componen la F0 del cruzamiento del proyecto IBMAP Consortium.

Las extracciones del ADN genómico se han realizado mediante un protocolo de precipitación salina con Cloruro Sódico en saturación (5.5 M), (MILLER *et al.*, 1988).

Se han probado 139 microsatélites marcados fluorescentemente con las condiciones de amplificación descritas por ROHRER *et al.* (1996), con algunas modificaciones. El análisis de los productos de PCR se ha realizado mediante electroforesis capilar en un equipo automatizado de detección fluorescente (ABI PRISM 310 Genetic analyzer).

Para valorar la informatividad de cada uno de los microsatélites se ha utilizado el Índice de Ron (Ie) (RON *et al.*, 1995). Este cálculo ha sido adaptado a nuestro diseño experimental para poder aplicarlo a la población parental. Así, siendo Ai, Aj el genotipo para cada macho Ibérico, calculamos:

$$Ie = 1 - 1/2(Pi + Pj)$$

donde: Pi = Frecuencia del alelo Ai en la muestra de hembras Landrace.

Pj = Frecuencia del alelo Aj en la muestra de hembras Landrace.

Una vez calculado el Ie para cada macho, se calcula la media de los tres resultados. Así, cuanto menor sea la frecuencia de los alelos de los individuos Ibéricos en las hembras Landrace, más alto será el valor Ie para aquel microsatélite.

Resultados y discusión

Los microsatélites son repeticiones en tándem de 2 a 5 nucleótidos uniformemente distribuidos por todo el genoma, con una elevada tasa de variabilidad poblacional en el número de repeticiones. Una vez determinada su posición en el genoma, se pueden usar como marcadores para detectar la presencia de QTL's ligados a ellos y asociados a los fenotipos observados.

Para este tipo de experimentos nos interesan solamente los marcadores que sean suficientemente informativos (reflejado en un Ie alto), es decir, aquéllos en los que haya una alta divergencia en los alelos presentes en cada población y en las frecuencias de los mismos, ya que esto permite seguir la herencia de los alelos al analizar la segregación de la F2.

Inicialmente se analizaron los 139 microsatélites para los 3 animales Ibéricos y 5 Landrace, obteniendo los siguientes resultados: Ie = 0 en 3 microsatélites, Ie < 0,5 en 19, Ie =[0,50 -0,69] en 23 casos, Ie = [0,70-0,99] en 69 y Ie = 1 en 25 marcadores (figura 1). La mayoría de estos marcadores presentan un nivel elevado de informatividad que refleja la diferencia genética existente entre las dos poblaciones del experimento. De estos 139 microsatélites analizados, se rechazaron 27 por estar en zonas del genoma suficientemente cubiertas por otros microsatélites más informativos, y 22 debido a su baja informatividad.

Finalmente, los marcadores seleccionados se genotiparon en el resto de hembras de la población F0 (26), y se volvió a calcular el Ie de cada microsatélite. Cuando se comparan los valores de Ie inferidos a partir de una muestra de la población parental con los calculados para la generación parental completa no se encuentran diferencias significativas, concluyéndose que en nuestro caso, y con la muestra de animales utilizada, el cálculo del Índice de Ron ha requerido pocos datos para obtener valores suficientemente fiables.

Los marcadores moleculares finalmente seleccionados, según su posición y su informatividad, son 90 microsatélites, los cuales están siendo usados actualmente para analizar la descendencia del cruzamiento del proyecto IBMAP Consortium. Asimismo se han probado 80 microsatélites mediante tinción con nitrato de plata, con el fin de disponer de una batería adicional de microsatélites polimórficos que permitiría cubrir zonas del genoma en las que no se disponga de suficientes microsatélites fluorescentes informativos. El objetivo siguiente será relacionar los genotipos obtenidos con los caracteres fenotípicos de calidad estudiados.

Agradecimientos

A Nova Genètica, en especial a P. Borrás y E. Ramells, y al Area de Producción Animal del UdL-IRTA (M. Pérez Enciso, J. L. Noguera) por la cesión del material animal. La Junta de Castilla la Mancha cedió muy amablemente los verracos Guadyerbas a Nova Genètica.

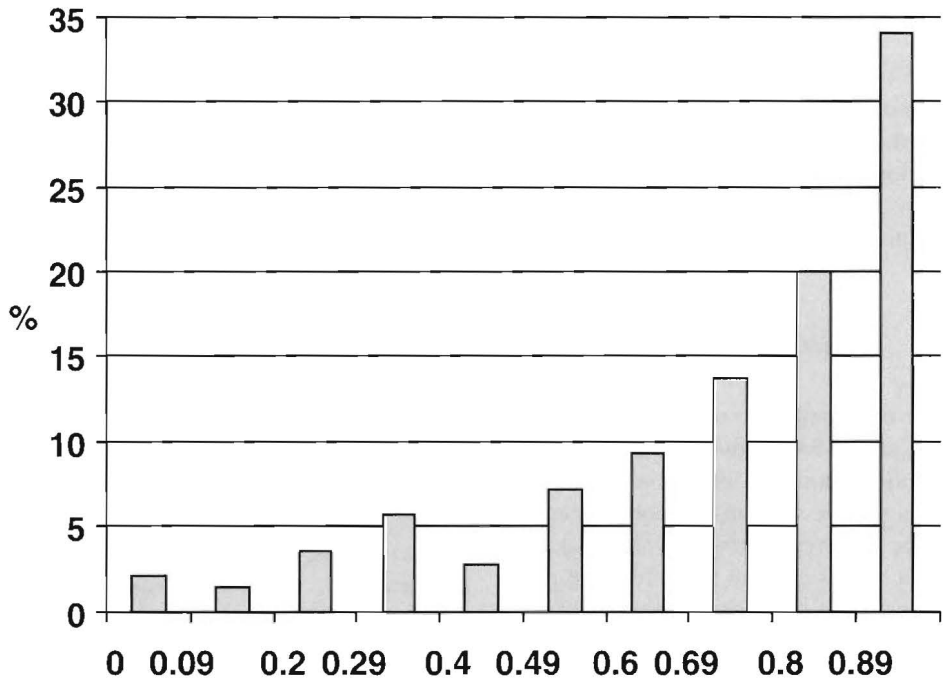


Figura 1. Porcentage de microsatélites (ordenadas) que presentan un determinado valor de Ie (abcisas), en intervalos de 0,1 unidades

Al "THE usda SUPPORTED U.S. Pig Genome Coordination Project" por la contribución de los primers que hemos usado para la elaboración del trabajo molecular del proyecto.

Proyecto financiado por la CICYT AGF96-2510.

Bibliografía

IBMAP CONSORTIUM, 1998. An experiment to detect QTL's affecting meat quality in Iberian and Landrace pigs. Abstract presentado en el "6th world Congress on genetics applied to livestock production", celebrado en Sidney en 1998.

MILLER S.A., DYKES D.D. & POLENSKY H. F., 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells, Nucleic Acid Research, 16, n.° 3, 1215.

ROHRER G., ALEXANDER L., HU Z., SMITH T., KEELE J., BEATTIE C., 1996. A comprehensive Map of the Porcine Genome, Genome Research, 6, 371-391.

RON M., LEWIN H., DA Y., BAND M., YANAI A., BLANK Y., FELDMESSER E. & WELLER J. I., 1995, Prediction of informativeness for microsatellite markers among progeny of sires used for detection of economic trait loci in dairy cattle, Animal Genetics, 26, 439-441.