APLICACIÓN DEL ANÁLISIS DE *CLUSTERS* GENÉTICOS A LA ASIGNACIÓN DE INDIVIDUOS A POBLACIONES PORCINAS

Estela Fabuel, Carmen Barragán, Luis Silió y Miguel Toro
Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Madrid.

INTRODUCCIÓN

El análisis de *clusters* genéticos, que a partir de los genotipos de múltiples loci permite identificar individuos relacionados, ha sido recientemente propuesto como una técnica alternativa a las distancias genéticas para inferir la estructura de poblaciones animales y asignar individuos a las mismas (Pritchard et al., 2000; Dawson & Belkhir, 2001). Rosenberg et al. (2001) trabajando con datos genotípicos de 20 razas y líneas de gallinas europeas han mostrado la utilidad de este método en la definición de unidades de conservación. En el presente trabajo, a partir de genotipos de individuos adscritos a las principales variedades y estirpes de cerdo Ibérico y de la raza Duroc, se analiza la correspondencia entre poblaciones predefinidas de acuerdo con criterios fenotípicos y geográficos y los *clusters* genéticos inferidos mediante esta técnica.

MATERIAL y METODOS

Poblaciones. Dos de las poblaciones analizadas (Guadyerbas y Torbiscal) pertenecen al programa de conservación que se mantiene en la piara experimental de 'El Dehesón del Encinar' (Rodrigañez et al. 2000, Toro et al. 2000). Los tres restantes grupos de cerdos Ibéricos representan las tres principales variedades actuales: Negro Lampiño, Retinto y Entrepelado. Se obtuvieron muestras de 173 animales (77 verracos y 96 cerdas) inscritos en el Libro Genealógico de la raza, con la distribución siguiente: 31 Torbiscal, 32 Guadyerbas, 50 Retinto, 30 Entrepelado y 30 Lampiño. Debido a su relación histórica y actual con el cerdo Ibérico fueron asimismo analizados otros 40 animales Duroc.

Microsatélites. Todos los animales se genotiparon para 36 microsatélites, elegidos por su reproducibilidad, posición, polimorfismo y ausencia de alelos nulos. Los microsatélites, amplificados por PCR, fueron analizados en un equipo de electroforesis capilar con detección por fluorescencia (ABI PRISM 310 Genetic Analyzer) y para optimizar la determinación del tamaño de los alelos, en todos los geles se genotiparon cuatro animales control.

Análisis estadístico. La construcción de *clusters* genéticos se realizó mediante el algoritmo *structure* de Pritchard et al. (2000) que estima la fracción del genotipo de cada individuo que pertenece a cada *cluster* en ausencia de cualquier información previa sobre la estructura de la población. En consecuencia, los individuos son asignados (probabilísticamente) a una población, o a varias si sus genotipos indican que son mestizos. El

algoritmo se resolvió mediante un procedimiento Bayesiano empleando cadenas Markov y métodos Montecarlo. El número de iteraciones fue de 11000 de las que se descartaron las 1000 primeras.

RESULTADOS Y DISCUSION

El número medio de alelos por microsatélite fue 7,2 en los cerdos Ibéricos (rango: 4 a 14) y 5,4 en los Duroc (rango: 2 a 10). La heterocigosidad media observada fue 0,567 en ibérico y 0,549 en Duroc, mientras la heterocigosidad esperada bajo equilibrio de Hardy-Weinberg presentó valores más elevados: 0,697 y 0,648 respectivamente.

El algoritmo *structure* fue aplicado inicialmente a la clasificación de los genotipos de los 213 cerdos analizados en dos *clusters*. Los resultados indican que la mayoría de los genotipos de las cinco variedades y estirpes de cerdo Ibérico se agrupan en un mismo cluster y los genomas de los animales de raza Duroc lo hacen en el otro (Tabla 1).

Tabla 1. Proporción de miembros de cada población predefinida (estirpe, variedad o raza) asignada a cada uno de dos posibles *clusters* a partir de los genotipos de 36 microsatélites por individuo

	Cluster	
Población	*1*	*2*
Torbiscal	0,001	0,999
Guadyerbas	0,001	0,999
Retinto	0,011	0,989
Entrepelado	0,050	0,950
Lampiño	0,010	0,990
Duroc	0,997	0,003

Hay una coincidencia casi perfecta con las dos razas, siendo las estirpes Guadyerbas y Torbiscal quienes se diferencian con menor incertidumbre de la raza Duroc. Precisamente, cualquier introgresión de Duroc en estas estirpes es absolutamente descartable ya que se mantienen genéticamente aisladas con un registro genealógico completo que se remonta hasta el año 1944, mucho antes de la primera importación a España de cerdos Duroc-Jersey que tuvo lugar en 1962.

Cuando el algoritmo *structure* se aplicó exclusivamente a los 173 individuos de raza Ibérica, asumiendo un mismo número de *clusters* y de subpoblaciones (cinco), se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 2.

Tabla 2. Proporción de miembros de cada variedad o estirpe de cerdos Ibéricos asignada a cada uno de los cinco posibles *clusters* a partir de los genotipos de 36 microsatélites por individuo

	Cluster				
Población	*1*	*2*	*3*	*4*	*5*
Torbiscal	0,985	0,006	0,003	0,004	0.002
Guadyerbas	0,002	0,994	0,001	0,001	0.001
Retinto	0,084	0,007	0,451	0,449	0.009
Entrepelado	0,030	0,016	0,420	0,527	0.008
Lampiño	0,024	0,081	0,223	0,322	0,351

Estos resultados indican que un 98,6% de los genotipos Torbiscal y un 99,5% de los Guadyerbas fueron clasificados como dos *clusters* separados. Sin embargo, los resultados son menos claros para las otras subpoblaciones en las que una proporción variable puede atribuirse a diversos *clusters*. Las dos primeras estirpes constituyen poblaciones genéticamente mejor definidas que las tres variedades actualmente descritas en la población de cerdos Ibéricos. Estas últimas se definen exclusivamente por las características morfológicas de color de capa y pelo análogas a las que identificaban a las variedades tradicionales. Sin embargo, durante la recuperación del censo registrada en la última década ha tenido lugar un importante flujo genético entre ellas, como han acreditado estudios de secuencias de ADN mitocondrial (Alves et al., 2002) y como se verifica en el presente trabajo.

REFERENCIAS

Alves et al. (2002) Mitochondrial DNA sequence variation and phlylogenetic relationships of Iberian pigs and other domestic and wild pig populations Enviado a *Animal Genetics*.

Dawson KJ, Belkhir K (2001) A bayesian approach to the identification of panmictic populations and the assignment of individuals. *Genet Res* 78: 59-73.

Pritchard et al. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.

Rodrigáñez et al. (2000) Alleles survival from Portuguese and Spanish strains in a population of Iberian pig. In: Afonso JA, Tirapicos JL (eds) *Tradition and innovation in Mediterranean pig production*, CIHEAM/ICAM-UE: Zaragoza, pp 57-61.

Rosenberg et al. (2001) Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds. *Genetics* 159: 699-713.

Toro et al. (2000) Genealogical analysis of a closed herd of black hairless Iberian pigs. *Conserv Biol* 14: 1843-1851.