INFLUENCIA DE GENES MITOCONDRIALES SOBRE EL CONTENIDO DE GRASA INTRAMUSCULAR EN CERDOS IBERICOS

E. Alves, A. Fernández, C. Ovilo, E. de Pedro[1], C. Rodríguez y L. Silió
Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Madrid
[1] Departamento de Producción Animal, ETSIAM, Córdoba

INTRODUCCION

El ADN mitocondrial (mtADN) codifica en los mamíferos 13 enzimas, relacionados con la producción de energía en las mitocondrias, además de 24 moléculas de ácidos ribonucleicos (ARN): 22 tARN y dos rARN. Se considera que esta actividad funcional tendría relevancia práctica en programas de mejora genética animal si el porcentaje de varianza fenotípica explicado por la variación del genoma mitocondrial excediera el 5% (Gibson et al., 1997). Sin embargo, son escasos los estudios publicados sobre asociación entre polimorfismos del mtADN y caracteres productivos en especies domésticas. Efectos de este tipo se han descrito en vacuno tanto sobre caracteres productivos (Schutz et al., 1994; Boetticher et al., 1996) como reproductivos (Sutarno et al., 2000). Asimismo en vacuno de carne, se ha descrito un efecto de haplotipos de mtADN sobre el área de lomo y el veteado de la carne (Mannen et al., 1998), posteriormente atribuido a una mutación en el gen mitocondrial *16S rRNA* (Mannen et al., 2003).

No conocemos los resultados de posibles estudios realizados en cerdos. El objetivo del presente trabajo ha sido investigar la posible influencia de haplotipos de mtADN sobre el contenido en grasa intramuscular en cerdos ibéricos, como principal carácter de calidad de carne. Se ha utilizado para ello la población Torbiscal, en la que el conocimiento íntegro de su genealogía permite rastrear los linajes maternales hasta las cerdas fundadoras de esta población compuesta, lo que facilita la detección de la diversidad existente en el mtADN que se hereda sin recombinación en la vía madre-madre (Bowling et al., 2000).

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales. A partir del registro genealógico completo de los reproductores de la población Torbiscal, se ha podido determinar la evolución a lo largo de su historia del número de linajes maternales de cerdas fundadoras. En el momento presente son nueve los linajes maternales supervivientes. Las muestras biológicas utilizadas para la secuenciación de regiones de mtADN proceden de animales representativos de los mismos. Los datos fenotípicos analizados proceden de 319 animales castrados sacrificados con una media de 353 días de edad y 158.9 kg de peso. Los animales fueron objeto de un despiece comercial y mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) se determinó el contenido de grasa intramuscular (GIM) en muestras de lomo.

Secuenciación. Las técnicas utilizadas en la amplificación y secuenciación de la región hipervariable de control *D-loop* y del gen Citocromo b (*Cytb*) han sido previamente descritas, así como los métodos de alineamiento de secuencias y detección de polimorfismos (Alves et al., 2003). Técnicas similares se han empleado para el análisis de los genes *16S rRNA* (1571 pb), *NADH4L* (297 pb) y *COII* (696 pb) utilizando parejas de oligos cebadores diseñados a partir de la secuencia de mtADN de cerdo publicada (AJ002189).

Métodos estadísticos. Para el análisis del porcentaje de grasa intramuscular, se empleó un modelo animal univariado en el que se consideraron como efectos sistemáticos el lote de sacrificio (9 niveles) y el haplotipo para las regiones mitocondriales *D-loop* y *Cytb* (6 niveles), el peso de la canal como covariable y como efectos aleatorios el genotipo del animal y el residuo. Asumiendo a priori planos, se obtuvieron mediante el algoritmo de muestreo de Gibbs las distribuciones marginales posteriores de los parámetros de interés, y sus principales estadísticos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Tabla 1. Posiciones variables en la región *D-Loop* y gen del Citocromo B (*Cyt B*) comparados con la secuencia de referencia GenBank AJ002189 en linajes maternales fundadores de la línea Torbiscal. Los puntos indican bases idénticas y los guiones la deleción de una base.

		Cyt B								*D-loop*										
Haplotipos	Posiciones nucleotídicas / Linajes mitocondriales	14264	14309	14717	14740	15017	15264	15544	15558	15578	15615	15694	15714	15715	15717	15741	15758	16127	16139	16141
	AJ002189	T	G	G	C	T	A	G	A	_	T	C	T	T	C	C	T	A	A	A
H1	52 y 136	.	A	A	.	.	.	A	.	.	.	.	.	C	.	.	C	G	G	G
H2	214	.	.	A	T	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	C	G	G	G
H3	1	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	C	G	G	G
H4	268, 274 y 291	.	.	A	.	.	.	.	.	A	.	.	C	.	.	.	C	G	G	G
H5	270	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	T	C	.	.	.
H6	272	.	.	A	.	.	G	.	.	.	.	.	C	.	.	.	C	.	G	G

En las secuencias de las muestras representativas de los nueve linajes maternales de la población Torbiscal, se han identificado nueve polimorfismos nucleotídicos sencillos (SNP) en la región *D-loop* y otros cuatro en el *CytB*. Las combinaciones de estos SNP permiten definir seis haplotipos mitocondriales. Tres de estos haplotipos se observan en linajes maternales del origen genético Campanario: H5 y H6 corresponden a los linajes de las fundadoras 270 y 272, y H4 es común a los linajes de las cerdas 268, 274 y 291. Los tres restantes haplotipos son específicos de cada una de los otros orígenes: Ervideira (H1), Puebla (H2) y Caldeira (H3), correspondiendo respectivamente a los linajes de las cerdas fundadoras 52 y 136, 1 y 214 (Tabla 1).

Las frecuencias de estos haplotipos (*m*) en los animales Torbiscal con medidas de GIM se muestran en la Tabla 2, junto a sus efectos sobre este carácter expresados como contrastes respecto al haplotipo mitocondrial más frecuente (H2). Un examen de estos resultados indica que el efecto del haplotipo H3 es significativamente mayor que el del H2 [Prob (H3-H2) > 0 = 0.980]. Asimismo este efecto es significativamente mayor que el de los haplotipos H1 y H6 [Prob (H3-H1) > 0 = 0.950; Prob (H3-H6) > 0 = 0.975].

Tabla 2. Frecuencias (*m*) de los haplotipos mitocondriales en cerdos Torbiscal con medidas de grasa intramuscular (GIM). Estadísticos de las distribuciones marginales posteriores de la heredabilidad y efectos sobre GIM (%) de los haplotipos, estimados como desviaciones respecto al de mayor frecuencia (H2, *m* = 60.27 %)

	m, %	Media	Moda	D. T.	90% MDP	Prob > 0
Heredabilidad, h^2	–	0.64	0.65	0.15	0.41 – 0.90	–
Contraste con haplotipo H2 , %						
H1	5.33	- 0.13	- 0.02	0.70	- 1.29 – 0.99	0.428
H3	10.66	1.24	1.19	0.64	0.13 – 2.26	0.981
H4	7.21	0.53	0.48	0.67	- 1.00 – 1.87	0.725
H5	10.03	0.12	0.10	0.61	- 1.29 – 0.99	0.577
H6	25.39	- 0.05	- 0.08	0.45	- 0.78 – 0.70	0.454

Dado que la media del contenido de GIM en los cerdos analizados es de 7.47 %, las diferencias observadas en GIM respecto a los haplotipos H1, H2 y H6, próximas al 1.25 %, suponen un importante efecto favorable del haplotipo H3. Este haplotipo no presenta cambios nucleotídicos exclusivos en ninguna posición de la región secuenciada *D-loop* y *Cytb*, por lo que su posible efecto sobre GIM debe explicarse por desequilibrio de ligamiento con una posición variable de otra región codificante del mtDNA. Para identificar la posible mutación causal de este efecto se han secuenciado hasta el momento los genes mitocondriales *16S rRNA*, *NADH4L* y *COII* en muestras de individuos de todos los haplotipos.

La elección del gen *16S rRNA* se debe a que en vacuno se ha identificado en este gen un SNP con posible efecto sobre el veteado de la carne (Mannen et al., 2003). Las secuencias de este gen obtenidas en todos los cerdos Torbiscal presentan tres variaciones respecto a la secuencia de referencia: la inserción de G y A en las posiciones 1227 y 1585 del mtADN, y la sustitución G $\rightarrow$ A en la posición 2452. Debido a ello, la secuencia completa es de 1571 pb y no de 1569 pb como se describe en la secuencia de referencia GenBank AJ002189. Además se ha detectado en el haplotipo H6 otra sustitución G $\rightarrow$ A en la posición 2452, que no permite explicar los efectos observados. No se detectan diferencias en las secuencias de los genes *NADH4L* y *COII*, elegidos entre los de mayor tasa de mutación en cerdos (Kijas y Andersson, 2001). La investigación se extenderá a otros genes mitocondriales no estudiados hasta ahora en cerdos ibéricos.

REFERENCIAS

Alves E. et al., 2003. *Anim. Genet.* **34**: 319-324.
Boetticher P. J. et al., 1996. *J. Dairy Sci.* **68**: 2038-2051.
Bowling et al., 2000. *Anim. Genet.* **31**: 1-7.
Gibson J.P. et al., 1997. *Livest. Prod. Sci.* **47**: 115-124.
Kijas J.M.H. y Andersson L., 2001. *J. Mol. Evol.* **52**: 302-308.
Mannen H. et al., 1998. *J. Anim. Sci.* **76**: 36-41.
Mannen H. et al., 2003. *J. Anim. Sci.* **81**: 68-73.
Schutz M. M. et al., 1994. *Livest. Prod. Sci.* **37**: 283-295.
Sutarno J.M. et al., 2000. *Theriogenology* **57**: 1603-1610.