RESULTADOS DE UN PANEL DE SNP DE TRAZABILIDAD RACIAL IBÉRICO-DUROC PARA LA APLICACIÓN DE LA NORMA DE CALIDAD

Caraballo[1], C., Muñoz[1], M., Delgado-Chavero[2], C., González[2], M. y García-Casco[1], J.M.
[1]INIA, Centro de I+D en Cerdo Ibérico, 06300 Zafra, [2]Asociación Interprofesional del Cerdo Ibérico (ASICI), 06300 Zafra.
garcia.juan@inia.es

INTRODUCCIÓN

Los productos elaborados procedentes de cerdos Ibéricos están regulados, en su producción y comercialización, por una Norma de Calidad (BOE 2014) que se basa fundamentalmente en la trazabilidad de los sistemas de finalización del animal (*cebo*, *cebo de campo* y *bellota*) y de los tipos raciales permitidos (Ibéricos puros e Ibéricos cruzados con Duroc al 50% o al 75%, siempre a partir de madres Ibéricas puras). En este contexto, los test de ADN basados en marcadores genéticos pueden ser una herramienta muy útil para contrastar el origen racial de los animales o de los productos, contribuyendo así al cumplimiento de la Norma y a la prevención contra el fraude, como ya se ha expuesto en Muñoz et al. (2013); Barragán et al. (2015) y Caraballo et al. (2016 y 2017).

Con este objetivo, se diseñó un panel de 64 SNPs (single nucleotide polymorphism) específico para diferenciar la raza Ibérica de la raza Duroc (manuscrito en preparación). Los SNPs presentan varias ventajas sobre otro tipo de marcadores: son más abundantes y están distribuidos por todo el genoma, son fáciles de manejar e interpretar y muestran una mejor compatibilidad con la automatización del proceso de análisis. Su desventaja de ser mayoritariamente bialélicos se puede solventar genotipando un mayor número de ellos.

En este trabajo, un panel de 64 SNPs se ha empleado para estimar los porcentajes de las razas Ibérica y Duroc de muestras de cerdos de los distintos tipos raciales, tanto reproductores como cerdos de producción, procedentes de diversas ganaderías, industrias y asociaciones sectoriales. La presentación de los resultados obtenidos en estos análisis en los últimos tres años, ofrece una visión global de la situación racial en la aplicación de la citada Norma de Calidad y, por tanto, en la propia población de cerdos Ibéricos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los análisis para corroborar el origen racial se realizaron en 2491 muestras de cerdos o productos derivados, procedentes de 18 empresas diferentes, de los cuales 611 estaban considerados como Ibérico puro, 166 del 75%, 1629 del 50% y 85 eran de la raza Duroc. Se extrajo el ADN a partir de 192 biopsias auriculares, 2001 muestras de sangre y 298 muestras de tejido muscular utilizando los kits NucleoSpin Food (Macherey-Nagel), NucleoSpin Blood (Macherey-Nagel) y Ron's Tissue DNA Mini Kit (Bioron), respectivamente, siguiendo las instrucciones del fabricante. Estas muestras fueron genotipadas para un panel de 64 SNPs con frecuencias extremas para Duroc e Ibérico ya que mostraron una diferencia de frecuencia para el mismo alelo entre ambas razas superior a 0.80. El genotipado se realizó a través de la plataforma OpenArray™ Genotyping de TaqMan® (Thermo Fisher Scientific) y la eficiencia del genotipado se evaluó con la herramienta de diseño de análisis Custom TaqMan®.

Posteriormente, a partir de los datos de genotipado se realizó un análisis de "admixture" para discriminar entre las poblaciones, asignar su pertenencia a un grupo y estimar los niveles de mezcla de razas utilizando un método de clustering Bayesiano implementado en BAPS (Corander et al., 2013). Además, se utilizó el software STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) para verificar los resultados de BAPS y estimar intervalos de confianza al 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra el número de empresas y cerdos implicados en los análisis, en función del tipo racial, y la media del porcentaje estimado de raza Ibérica en cada uno de ellos. La Tabla 2 pormenoriza estos resultados con el número de cerdos y su porcentaje sobre el total analizado en cada tipo racial, en función de una serie de tramos establecidos según el porcentaje de Ibérico estimado.

Los **cerdos Ibéricos puros** analizados son todos reproductores o lechones sin destino definido (futuros reproductores o cerdos para sacrificio), excepto 11 muestras de cerdos de montanera. El porcentaje medio de raza Ibérica (%Ib) es del 88,5%Ib, con un 45% de los

ejemplares con porcentaje de Ibérico inferior al 90%Ib. Este resultado tiene una especial relevancia puesto que la conservación de la raza es una de las principales justificaciones de la propia Norma de Calidad. En este sentido, en el panel se incluyen SNPs de los genes *IGF2* y *MC1R*, que estaban fijados hace años para alelos exclusivos de Ibérico (Silió y García Casco, 2009) y en los cuales aparecen hoy variantes alélicas propias del Duroc, si bien a baja frecuencia. Además de las 11 muestras de cerdos de montanera de la variedad Dorado Gaditano, no reconocida aún como tal en el Libro Genealógico, que presentan un porcentaje medio de Ibérico del 81,7%Ib, se incluyeron en los análisis 65 cerdos inscritos en el Libro Genealógico de la raza Alentejana, con una porcentaje medio de Ibérico de 93,8%Ib, acorde con otros resultados presentados por Muñoz et al. (2017).

Los resultados de los **cerdos cruzados del 50%Ib** también corresponden mayoritariamente a reproductores, en este caso 1399 machos supervisados en su trazabilidad racial por ASICI. El porcentaje global de Ibérico no está muy alejado del 50%Ib, situándose un 56% de los cerdos en el tramo 45-55%Ib y sólo un 12% en el tramo por debajo del 40%Ib. Estas cifras, que mejoran año a año, invitan al optimismo respecto al cumplimiento de la Norma en la categoría racial del 75%Ib en un futuro cercano. El esfuerzo que ASICI está llevando a cabo en estos reproductores, con porcentaje medio de Ibérico de 47,5%Ib, constituye a día de hoy el único ejemplo de control racial sistemático mediante marcadores genéticos en el cumplimiento de la Norma. La composición racial del resto de los cerdos del 50%Ib (230 lechones o cerdos ya sacrificados, con media de Ibérico de 43,9%Ib), es un reflejo de los resultados encontrados en los reproductores puros expuestos en el párrafo anterior.

Los resultados de los análisis de los 166 **cerdos para el sacrificio del 75%Ib**, que tuvieron una media del porcentaje de raza Ibérico de 63,1%Ib, ponen de manifiesto la dificultad de cumplimiento estricto de la Norma en esta categoría racial. Este problema es el que está siendo abordado por ASICI, como ya se ha indicado, mediante análisis de todos los reproductores del 50%Ib con este panel de 64 SNPs. Un 45% de las muestras presentan porcentaje de Ibérico por debajo del 65%Ib, cifra que sube al 61% si se considera el 70%Ib. Incluso se observa un 21% por debajo del 50%Ib. Sin embargo, es necesario indicar que estas muestras del 75%Ib proceden de cerdos criados en los años 2015 y 2016, anteriores a los controles instaurados por ASICI.

Los resultados en **cerdos reproductores Duroc**, procedentes de compañías de genética y de una piara del denominado Duroc tradicional (cerdos adquiridos para el cruce con Ibérico a finales del siglo pasado, mantenidos desde entonces como núcleo cerrado), presentan un porcentaje medio de Ibérico de 6.9%Ib con un 64% por encima del 90% de Duroc. Los animales encontrados por debajo del 90% de Duroc corresponden en su mayoría al Duroc tradicional, lo que indicaría cierta contaminación con Ibérico a lo largo de esos años.

Los cerdos analizados en este trabajo no son una muestra planificada de la población de cerdos Ibéricos, puesto que proceden de demandas puntuales de análisis de empresas públicas y privadas, pero los resultados sí se pueden contemplar como indiciarios del estado global de dicha población respecto al cumplimiento de la Norma. Los resultados expuestos ponen en valor la utilidad de este panel de SNPs para efectuar análisis raciales que determinen el contenido en Duroc e Ibérico de cerdos vivos, muestras de matadero o de productos incluidos en la Norma de Calidad. Estos análisis podrían ser también válidos como control en muestras elegidas adecuadamente en los reproductores del Libro Genealógico de la Raza Ibérica, con el fin de evitar o al menos disminuir la presencia de alelos ajenos a esta raza, tal y como se ha expuesto en el caso de los genes *IGF2* y *MC1R*.

***Tabla 1**. Número de empresas en los que se han realizado análisis, animales analizados de cada tipo racial y porcentaje estimado de raza Ibérica*

Tipo	Nº Empresas	Nº Cerdos	% Ibérico
Cruce 50	5	1629	47,0%
Cruce 75	2	166	63,1%
Ibérico	11	611	88,5%
Duroc	3	85	6,9%

***Tabla 2**. Número de animales incluidos en cada tramo de porcentaje estimado de raza Ibérica y porcentaje sobre el total de cada tipo racial*

Tipo y tramos	N	%	Tipo y tramos	N	%
Cruce 50%Ib			Cruce 75%		
< 40%Ib	198	12%	< 50%	35	21%
40 - 44%Ib	337	21%	50 - 64%	40	24%
45 - 55%Ib	922	56%	65 - 69%	26	16%
56 - 60%Ib	92	6%	70 - 80 %	48	29%
> 60%Ib	80	5%	> 80%	17	10%
Ibérico 100%Ib			Duroc		
< 75%	52	8%	> 10%	31	36%
75 - 89%	226	37%	≤ 10%	54	64%
≥ 90%	333	55%			

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

● BOE 2014. Real Decreto 4/2014, de 10 de enero. ● Corander, J. et al. 2013. BAPS : Bayesian Analysis of Population Structure. Manual v 6.0. Bioinformatics. ● Pritchard, J.K. et al. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. Genetics 155: 945–959 ● Silió, L. & García Casco, J.M. 2019. EAAP 60th Ann. Meet., Barcelona. ● Muñoz, M. et al. 2017. 11th Int. Symp. Modern Trends in Livestock Prod., Belgrado. ● Barragán, C. et al. 2015. VIII Dry Cured Ham World Congress, Toulouse. ● Caraballo, C. et al. 2016. 9th Int. Symp. Mediterranean pig, Portalegre. ● Caraballo, C. et al 2017. 4th Fatty Pig Science Int. Conf., Badajoz.

RESULTS OF AN IBERIAN-DUROC RACIAL TRACEABILITY SNP PANEL FOR THE APPLICATION OF THE QUALITY STANDARD

ABSTRACT: A 64 SNPs panel designed to discriminate Iberian pigs from Duroc breed was used to analyse 2491 samples of live animals and derived products included in the Standard Quality of the Iberian pig breed. The average percentage of Iberian breed was 88,5%Ib for Iberian purebred pigs showing up a slight contamination with Duroc breed in an important number of breeding animals. This percentage was 47.0%Ib for 50% crossbred pigs. On the other hand, an average percentage of 63.1%Ib was observed on 75% crossbred animals. This result support the the difficulty of a strict compliance of the Quality Standard in this category. Finally the 85 Duroc purebred sires showed an average value of 6.9%Ib, being a 64% of them below to a 10%Ib. The exposed results highlight the usefulness of this 64 SPNs panel to carry out analyses that determine the Duroc and Iberian racial percentage in live pigs, slaughterhouse samples or derived products included in the Quality Standard. These analyses could also be valid as a control in samples chosen appropriately in the Iberian Breed Herdbook, in order to avoid or at least decrease the presence of foreign alleles.

Keywords*:* Standard Quality, racial traceability, genetic markers, SNPs.