

ANÁLISIS POBLACIONAL DE SNP DEL GEN FUT-1 EN CERDOS LOCALES (PAMPA ROCHA) Y COMERCIALES UTILIZANDO TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN

ANALYSIS OF SNPS OF THE FUT1 GENE IN PAMPA ROCHA AND COMMERCIAL PIG BREEDS USING SEQUENCING TECHNIQUES

Llambí S.^{1*}, Montenegro M.¹, Castro G.¹, Barlocco N.², Vadell A.², Gagliardi R.¹, Arruga M.V.³

¹Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, UdelaR- Uruguay. *silvia.llambi@gmail.com

²Facultad de Agronomía, Universidad de la República, UdelaR- Uruguay

³Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, UNIZAR- España.

Keywords: DNA polymorphisms; population analysis; local breed pigs.

Palabras clave: polimorfismos de ADN; análisis poblacional; raza local de cerdos.

Abstract

In pigs there type polymorphisms SNPs in genes associated with major features of health, production and reproduction with economic impact on the swine industry. One of the most studied is the FUT-1 (α 1, 2fucosyltransferasa) gene. This gene was identified by PCR-RFLP and PCR-sequencing two SNPs biallelic polymorphisms (M307^{A/G} y M229^{C/T}). In this study by PCR-sequencing primary population description for these two polymorphisms were performed on a sample of 85 pigs of different breeds (26 local breed Pampa Rocha (PR group), 25 commercial hybrid pigs (group HC) and 34 pigs pure commercial breeds (RC group) Large White, Landrace, Duroc and Pietrain). The total population for the two SNPs is in HW equilibrium ($p > 0.05$) where allele frequencies: M307^A=0.365, M307^G=0.623, M229^C= 0.705 y M229^T = 0.294. The inbreeding coefficient for both loci was Fis = -0.164. The He average was 0.445 and Ho of 0.517. In conclusion our study we found high frequencies for M229^C allele in the three groups. The PR group had a slightly negative value of Fis (-0.365) and Ho higher than the other two groups evidencing an excess of heterozygotes while the HC group showed slightly positive Fis (0.05) showing a defect in heterozygotes.

Resumen

En cerdos la presencia de polimorfismos SNPs no sinónimos en un gen mayor como el FUT-1 se ha asociado con alteraciones de la fertilidad y aspectos sanitarios (resistencia a infecciones por E.coli en lechones). En este gen se han identificado dos SNPs bialélicos (M307^{A/G} y M229^{C/T}) en región codificante con una distancia menor a 100 pb. En el presente trabajo mediante la técnica de PCR y secuenciación de un fragmento de 421pb se realizó el análisis de un total de 85 animales: 26 animales de la raza local Pampa Rocha (grupo PR), 25 animales híbridos comerciales (grupo HC) y 34 animales de las razas comerciales Large White, Landrace, Pietrain, Duroc (grupo RC). Como resultados se identificaron ambos polimorfismos bialélicos en las tres poblaciones con las siguientes frecuencias alélicas, Heterocigosidad promedio Ho y He, coeficiente de endogamia Fis: a) grupo PR (M307^{A/G}, A=0.46, G=0.54, M229^{C/T}, C=0.73, T=0.27, Ho= 0.61, He=0.45, Fis=-0.365); b) grupo HC (M307^{A/G}, A=0.42, G=0.58, M229^{C/T}, C=0.70, T=0.30, Ho= 0.44, He=0.45, Fis=0.05); c) grupo RC (M307^{A/G}, A=0.28, G=0.72, M229^{C/T}, C=0.69, T=0.31, Ho= 0.5, He=0.41, Fis=-0.191). El grupo local PR presentó un valor de Fis negativo y Ho más alta con respecto a los otros grupos evidenciándose un exceso de heterocigotas con adecuada variabilidad genética para estos polimorfismos. En el grupo HC se obtuvo un valor de Fis positivo evidenciando la presencia de un proceso de endogámico. Se discuten los resultados con lo reportado por otros investigadores a nivel mundial sobre estudios de estos SNPs en razas comerciales y razas locales chinas.

Introducción

En cerdos existen polimorfismos tipo SNPs en genes mayores asociados a características de sanidad, producción y reproducción con repercusión económica en la industria porcina. Uno de los más estudiados es el gen FUT-1 (α 1,2fucosyltransferasa). Polimorfismos en este gen se han visto relacionados con resistencia/susceptibilidad a la diarrea post-destete producida por *E.coli* F18⁺ siendo causa de alta mortalidad en lechones. Por otro lado

también se han descrito asociaciones de estos polimorfismos con el aumento del tamaño de la camada. En este gen se han identificado por PCR-RFLP y por PCR-secuenciación dos polimorfismos SNPs bialélicos (M307^{A/G} y M229^{C/T}) en región codificante con una distancia menor de 100 bp relacionados con las características fenotípicas anteriormente mencionadas. En el presente trabajo mediante PCR-secuenciación se realizó la descripción primaria poblacional para estos dos polimorfismos en una muestra de 85 cerdos de distintas razas.

Material y métodos

Se realizó la extracción de ADN mediante kit AxyPrep (Axygen) a partir de sangre periférica en 85 cerdos adultos: 26 de raza local Pampa Rocha (PR), 25 cerdos híbridos comerciales (HC) y 34 cerdos de razas comerciales puras (RC) Large White, Landrace, Pietrain y Duroc. Las amplificaciones por PCR se realizaron de acuerdo a Llambí et al. (2011) para amplificar un fragmento del gen FUT-1 de 421 pb. Se analizó la secuencia mediante secuenciación automática (Macrogén Inc, Corea) y programas de libre acceso BioEdit y NCBI-BLAST. Para el análisis de variables poblacionales (cálculo de equilibrio H-W, frecuencias alélicas, He, Ho, Fis, Gst) se utilizaron los programas de acceso libre Genetix y PopGen32.

Resultados

Mediante la técnica de PCR-secuenciación se identificó la presencia de ambos polimorfismos bialélicos (M307^{A/G} y M229^{C/T}) (tabla I). La población total de 85 animales para los dos SNPs se encuentra en equilibrio de H-W ($p > 0.05$) siendo las frecuencias alélicas: M307^A=0.365, M307^G=0.623, M229^C= 0.705 y M229^T = 0.294. El coeficiente de endogamia para ambos loci fue de Fis= -0.164. La He promedio fue de 0.445 y la Ho de 0.517. En la tabla II se muestran los resultados obtenidos al estudiar los tres grupos. Trabajos realizados por Zhou et al. (2011) en 7 razas locales de cerdos asiáticos encuentran frecuencias del alelo M229^T que van desde 0.31 a la fijación mientras que en las razas comerciales Large White, Landrace y Duroc la frecuencia del alelo M229^C varía desde la fijación, 0.901 y 0.51 respectivamente. En este estudio encontramos frecuencias altas para el alelo M229^C en los tres grupos (tabla II). Zhou et al. (2011) encuentran asociación entre el genotipo M229^{C/T} y la resistencia/susceptibilidad a la diarrea post-destete. En nuestros cerdos locales PR encontramos una frecuencia de 0.53 para el genotipo M229^{C/T} (tabla I). Yanru Luo et al. (2010) para el alelo M307^A encuentran frecuencias bajas (0.22) al analizar 3 razas (Landrace, Large White y Songliao Black) mientras que en nuestras poblaciones estas frecuencias se encuentran más altas (M307^A 0.37) siendo en la raza local de 0.46 (Tabla II).

Tabla I. Genotipos identificados para los dos polimorfismos en los tres grupos de cerdos (*Genotypes for the two polymorphisms identified in the three groups of pigs*)

Pob.	M307 A/A	M307 A/G	M307 G/G	M229 C/C	M229 C/T	M229 T/T
PR	3	18	5	12	14	0
HC	5	11	9	12	11	2
RC	0	19	15	16	15	3

Tabla II. Análisis de variabilidad poblacional en los tres grupos de cerdos: frecuencias alélicas, He, Ho, Fis (*Analysis of population variability in the three groups of pigs: allele frequencies, He, Ho, Fis*)

	PR	HC	RC
M307 ^A	0.46	0.42	0.28
M307 ^G	0.54	0.58	0.72
M229 ^C	0.73	0.7	0.69
M229 ^T	0.27	0.3	0.31
He	0.45	0.45	0.41
Ho	0.61	0.44	0.5
Fis	-0.365	0.05	-0.191

Conclusiones

En los tres grupos de cerdos estudiados se encontraron los dos polimorfismos con buena variabilidad alélica. El grupo de los cerdos locales presentó frecuencia más alta del genotipo asociado con resistencia a diarrea post-destete. Se debería aumentar la muestra de animales para analizar estos dos SNP e incorporar registros fenotípicos sobre esta patología para poder realizar estudios de asociación.

Agradecimientos

Trabajo financiado por CSIC-UdelaR.

Bibliografía

- Llambí S., Montenegro M., Castro G., Barlocco N., Gagliardi R & Vadell A. (2011). Marcadores de ADN y Caracterización fenotípica en cerdos Pampa Rocha (Uruguay). Actas Iberoamericanas de Conservación Animal (AICA), v.: 1, p.:82-85
- Yanru Luo., Xiaotian Qiu., Hejun Li & Qin Zhang. (2010). Association between the Polymorphism in FUT1 Gene and the Resistance to PWD and ED in Three Pig Breeds. Asian-Aust. J. Anim. Sci. Vol. 23, (10) 1268 – 1275.
- Zhou Li-hua., Shu Qing-long., Peng Qiulin., Gou Yuan-mei & Yan Xue-ming. (2011). A Novel Coding Variant in the fut1 Gene and Its Effects on the resistance to Escherichia coli F18 Infection in Piglets. Scientia Agricultura Sinica.44(8): 1720-1726..