Uso de biología molecular en cerdos ibéricos

G. Ramis, A. Muñoz
Departamento de Producción Animal.
Facultad de Veterinaria.Universidad de Murcia.

INTRODUCCIÓN

Un grupo ordenado de proteínas. Eso es cada ser vivo: un grupo ordenado de proteínas. ¿Y cómo saben las proteínas como ordenarse para dar lugar a un virus, una bacteria, un cerdo o una persona? Gracias a los ácidos nucleicos. Estos contienen la información necesaria para dar lugar a todas las proteínas que configuran un organismo y cómo se deben colocar. La diferencia también está en el número de proteínas, mientras un virus tendrá entre 5 y 15, un cerdo o un humano es capaz de sintetizar más de 30.000 proteínas distintas.

Los ácidos nucleicos son el ADN y el ARN, que aunque hoy no le son ajenos a nadie, no son tan viejos conocidos. Baste saber que la estructura tridimensional del ADN se conoce hace tan solo 55 años. El ADN contiene la información sobre todas las proteínas del animal y el ARN lo traduce a proteínas; el primero tiene que ser muy estable y el segundo tiene que eliminarse una vez haga su función de traducción.

Vamos a esbozar como se puede usar la biología molecular; el estudio de los ácidos nucleicos en el marco de la producción de cerdo ibérico.

BUSQUEMOS ÁCIDOS NUCLEICOS

La pregunta es ¿Cuántos ácidos nucleicos podemos buscar en un cerdo? La pregunta parece paradójica: evidentemente del propio cerdo. Pero también de cualquier ser vivo relacionado con él: esto es, bacterias (tanto patógenas como saprófitas), virus o parásitos.

Ácidos nucleicos ajenos al cerdo

Como dijimos, todo ser vivo tiene ácido nucleicos, lo que nos permite buscarlos mediante técnicas moleculares. Encontrar los ácidos nucleicos es posible mediante distintas técnicas; la más popular actualmente es la PCR (*polimerase chain reaction*; reacción en cadena de la polimerasa) que replica un fragmento de ADN hasta que se pueda visualizar. Puede ser clásica (es cualitativa; solo da información de presencia/ausencia de un ácido nucleico) o en tiempo real (es cuantitativa; nos puede informar sobre la cantidad de moléculas iniciales de ADN en la muestra). Cuando se trata de un virus que tiene ARN como dotación genética, primero habremos de hacer un retrotranscipción inversa (un mecanismo que existe en la naturaleza) para convertirlo en ADN y poder hacer la PCR. También podremos usar la hibridación in situ para encontrar ácidos nucleicos, pero en este caso en un tejido fijado en un porta de histología.

Pero, ¿en qué muestras podemos encontrar estos ácidos nucleicos? Prácticamente en cualquier muestra biológica: tejidos, heces, secreciones, exudados, leche, semen, abortos, fluidos orales, fluido broncoalveolar,

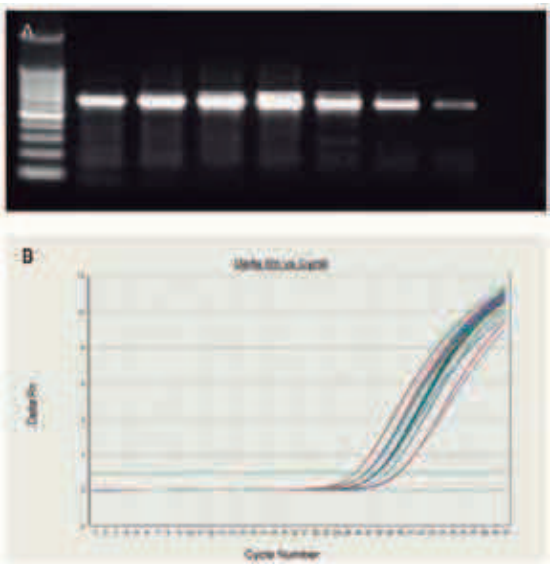

Figura 1: *A) Resultados de una PCR clásica. Solo nos indica positivo/negativo. B) Diagrama de una PCR cuantitativa o en tiempo real donde se representa cantidad de producto de PCR frente a ciclos. Cada línea representa una muestra y es cuantitativa en el momento en que la reacción se hace exponencial.*

carne o procesados. Siempre hay que tener en cuenta que el ADN es muy estable y el ARN es muy poco estable de forma natural. Por tanto, debemos preservar adecuadamente las muestras para poder obtener resultados fiables. Pero este tema se tratará en otro artículo.

No solo podemos identificar la presencia o la carga de un patógeno, sino que utilizando secuenciación (determinando la secuencia de ADN o ARN que tenga el patógeno en alguna parte del ácido nucleico) podemos comparar las distintas muestras de un mismo patógeno y determinar cercanía o lejanía entre cepas. Esto nos ayudará a comprender la trasmisión de ciertos patógenos.

Posiblemente, este uso de la biología molecular sea el más conocido tanto en producción de cerdo blanco como en producción de cerdo ibérico.

Ahora sí: ácidos nucleicos del cerdo

Cuando usemos el propio ácido nucléico del cerdo podremos usar otras técnicas moleculares, sobre todo enfocadas a la identificación, determinación de parentescos, búsqueda de mutaciones beneficiosas o perjudiciales o incluso cómo se expresan los genes en un animal.

Otro concepto es el de marcador molecular. Este concepto hace referencia a algún elemento del ADN que nos sirva de indicador. Los más utilizados son:

- **Microsatélites**: se trata de repeticiones de 2-6 pares de bases (pdb) que no se pueden convertir en proteínas (no se transcriben) y que sirven de separaciones entre genes que sí se transcriben. Estas zonas están en el mismo sitio en todos los animales pero el número de repeticiones pueden variar entre individuos. Utilizamos este principio para identificar animales o establecer

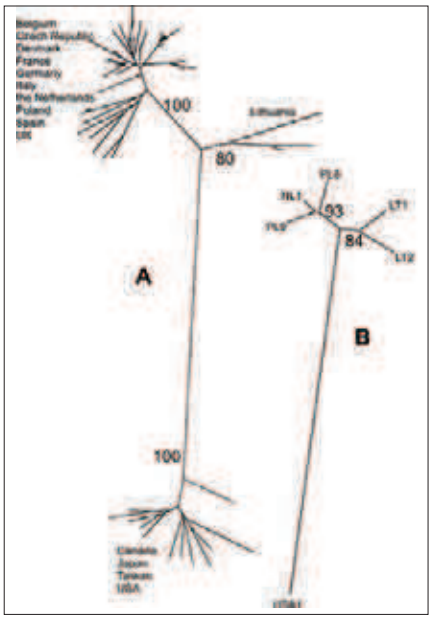

Figura 2: *Dendograma de las distintas cepas de virus PRRS secuenciadas para la ORF5 en el mundo (Peisajk et al., 2014). Se representan según la distancia genética entre grupos. En este caso están representadas todas las cepas genotipadas en cada país.*

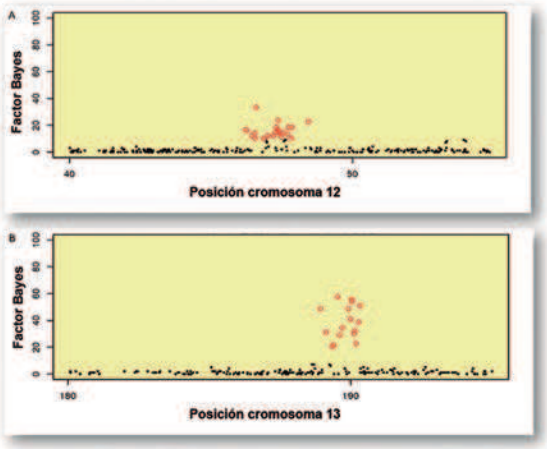

Figura 3. *Diagrama de Manhattan para los cromosomas 12 y 13 de Duroc con relación a grasa infiltrada. Los puntos rojos indican animales que han heredado el mismo polimorfismo en algún marcador SNP y que está significativamente relacionado con una buena deposición de grasa intramuscular.*

paternidades, contando el número de repeticiones. Cada microsatélite tiene dos alelos; uno heredado de cada progenitor.

- **SNPs**: siglas de "single nucleotide Polimorphism"; mutaciones de una sola base en una secuencia. Estas mutaciones pueden no tener ningún resultado en la traducción a proteínas (porque caiga en una zona no traducible o porque el cambio no produzca variaciones en la proteína) o por el contrario sí tener efectos. Estos efectos pueden ser beneficiosos o perjudiciales.
- **Secuenciación**: se trata de conocer la secuencia que hay en un ADN o ARN. Podemos secuenciar solo una parte de un genoma o podemos secuenciarlo completo. Esto último lo han posibilitado los avances en la tecnología de la secuenciación y en el abaratamiento de estas técnicas.

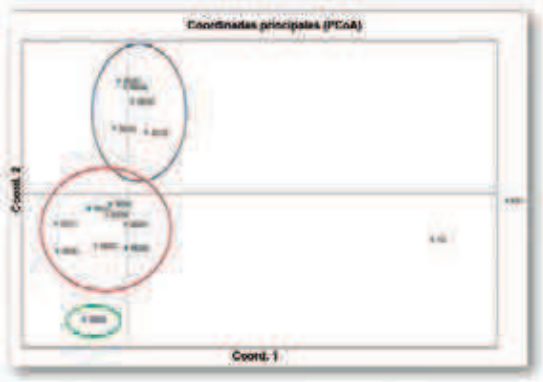

Figura 4. *Distancia genética determinada mediante microsatélites de los verracos Duroc de una piara cuyo parentesco se desconocía. Se pueden agrupar por cercanía genética y evitar usarlos en cruzamientos en consanguinidad.*

Y estos marcadores los podemos utilizar en varias técnicas relacionadas —en general— con la selección genética o el mantenimiento de las genealogías. Algunas de las técnicas más habituales hoy en día son:

- **QTLs**: Por las siglas en inglés de *Quantitaive Trait Loci*. Son zonas de ADN relacionadas con un carácter producitov cuantitativo y que está cerca o contiene alguno de los marcadores antes mencionados (microsatélites o SNPs). Esta zona del ADN se heredará siempre ligado al marcador. Si caracterizamos qué polimorfimo hay en ese marcador (el nucleótido o el número de repeticiones, dependiendo si es SNPs o microsatélite) en los animales que mejor producen podremos seleccionar en base a lo que tengan los futuros reproductores en esos marcadores. Los QTL se pueden determinar haciendo paneles de más de 60.000 SNPs y caracterizando fenotípicamente los animales para un carácter determinado. Esto se ha hecho en los últimos años para distintos caracteres como la grasa intramuscular, la deposición de tocino dorsal, la aceptación del jamón o la curabilidad, tanto en ibérico como en Duroc.

Identificación individual y racial: El mantenimiento de los pedigrís; conocer las relaciones familiares entre los animales de una población, permite mejorar notablemente la eficacia de la selección; lo primero que necesitamos es conocer la estructura de la población. En otras ocasiones nos permite conocer la cercanía genética de animales cuyo parentesco no conocemos, y evitar el cruzamiento de animales cercanos genéticamente. No solo eso, sino que ya estamos en la selección de reproductores de alta resolución; si genotipamos todo el ADN de un cerdo podemos compararlo con sus dos progenitores y ver cuál es la similitud a cada uno de ellos. Porque hasta ahora –en genética cuantitativa clásica- hemos supuesto que todos los animales de una camada son la mitad exacta de su madre y la mitad exacta de su padre. Y esto no es así. Durante la generación de gametos se pueden producir fenómenos que hagan que un animal no tenga la mitad "exacta" de su madre o padre. Con SNPs o genotipado completo podemos corregir este fenómeno.

La identificación racial también es posible usando microsatélites, SNPs o secuenciación. En los dos primeros

Figura 5. *Comparación probabilística de genotipos Ibérico puro, Iberico x Duroc y Durco mediante el programa Structure y tipando microsatélites. Cada barra representa un animal y las barras con más de un color indican participación de más de una raza.*

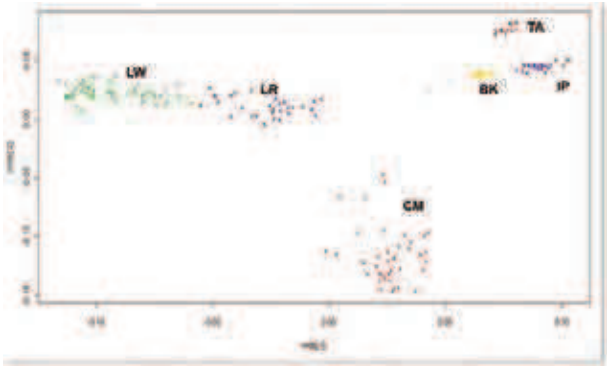

Figura 6. *Comparación de razas mediante análisis de SNPs. Nos permite ver la cercanía o lejanía de las razas. LW= Large White, LR= Landrace, BK= Berkshire, IP= Ibérico, CM= chato murciano, TA= Tamworth. Herrero-Medrano, 2012.*

casos se hace por comparación probabilística, con lo cual depende del estándar que utilicemos para asignar a las distintas razas.

Genealogías y test de paternidad como elementos de trazabilidad: otro de los usos posibles en ibérico es asegurar las genealogías y sobre todo poder hacer test de paternidad que nos aseguren que los animales son descendientes de los parentales registrados. Esto es una garantía de calidad cuando se quiera asegurar cruzamientos determinados. Una vez se haya tipado un verraco y tengamos su perfil de marcadores (microsatélites o SNPs) nos permitirá compáralo con cualquier potencial descendiente y asegurarnos de que las cubriciones se han hecho con el animal adecuado. También nos permitirán detectar verracos introduciendo genes con resultados patológicos (predisposición a hernias o úlceras) o alteraciones de la capa (capas grises indeseables).

Genes mayores: son genes que por sí mismos influyen en un fenotipo (no es lo normal, casi todos los fenotipos para un carácter son multigénicos; depende de muchos genes). Sabiendo que ciertas mutaciones en los genes mayores influyen en cómo se exprese un gen, podremos determinar el genotipo y predecir el fenotipo de un animal.

Uno de los genes mayores más reconocidos es el gen receptor Ryanodine; más conocido como gen del halotano. Una mutación puntual hace que los animales con la doble mutación (cambia C por T) tengan tendencia a sufrir estrés porcino o den lugar a carnes pálidas, blandas y exudativas (PSE). Este gen mayor no tiene mutaciones en ciertas razas como ibérico o Duroc, pero es frecuente en otras como Pietrain, o Landrace belga, aunque cada vez menos puesto que se ha ido seleccionando para eliminarla. Hay otros relacionados con el crecimiento (miostatina, MC4R o receptor 4 de melanocortina) o la deposición de grasa intramuscular (IGF2 o Factor insulínico de Crecimiento 2, HIMF o *High Intramuscular Fat*).

Expresión génica: mediante PCR en tiempo real podemos determinar cómo se expresan los genes una vez sometamos a los animales a algún tratamiento. Esto nos sirve para poder diseñar estrategias que activen o desactiven genes...o saber por qué ciertas estrategias, aditivos, piensos, etcétera, funcionan adecuadamente. Normalmente compararemos con genes que no varíen nunca y que nos sirvan de indicador.

CONCLUSIONES

Lo nuevo y lo clásico tienen que confluir....en este caso, hemos visto técnicas moleculares que suponen lo último, unido con el ibérico que supone la forma más clásica de porcinocultura de España. Sin duda se ha producido un arranque del uso de técnicas moleculares en este campo que conllevan garantía de trazabilidad, sanidad y mejora genética. Diagnóstico, mantenimiento de pedigrís, test de paternidad, QTLs al servicio de la selección, expresión génica, etcétera, son un verdadero mundo de herramientas al servicio del ibérico.