

NOTA BREVE

## DETECCIÓN DE RELACIONES GENÉTICAS EN LÍNEAS COMERCIALES DE CONEJOS

DETECTION OF GENETIC RELATIONSHIPS IN COMMERCIAL  
RABBIT STOCK

Arruga, M.V., L.V. Monteagudo y M.T. Tejedor

Laboratorio de Citogenética & Genética Molecular. Área de Genética. Facultad de Veterinaria. C/ Miguel Servet, 177. 50.013 Zaragoza. España. E-mail: ttejedor@posta.unizar.es

### PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Huella dactilar genética. Bandas compartidas. Sonda multilocus pV47.

### ADDITIONAL KEYWORDS

DNA fingerprinting. Band sharing. pV47 multilocus probe.

### RESUMEN

Cuatro machos aparecieron en un envío de conejas de una línea materna. Las relaciones genéticas entre machos y hembras se analizaron mediante la huella dactilar genética. Dada la existencia de bandas comunes, se introdujo como término de comparación un grupo control (conejos no relacionados entre sí ni con los animales a estudio). Se calcularon las proporciones medias de bandas compartidas ( $x$ ) dentro y entre estos tres grupos, que se compararon mediante análisis de varianza y test de la diferencia mínima significativa protegida de Fisher (PLSD). Los resultados mostraron que los machos no estaban relacionados con las hembras y probaron la utilidad de la metodología aplicada en ausencia de datos poblacionales y de pedigrí.

### SUMMARY

Four male rabbits appeared in a female shipment of maternal line. All the animals were analysed by DNA fingerprinting to study genetic relatedness. As some of the bands in the fingerprints were common, a control group of

rabbits was used for comparison (unrelated individuals which were also not related to the animals being tested). The mean band sharing ( $x$ ) within and between the groups was calculated and compared using analysis of variance and Fisher's protected least significant difference (PLSD) test. Results provided enough evidence to consider the test males as not related to the farm females, showing the usefulness of these techniques when any previous population data and individual pedigrees are unknown.

### INTRODUCCIÓN

Un criador de conejos recibió un envío de hembras de una línea materna, *abuelas* de los conejos de abasto, mezcladas con un grupo de machos. La verificación del parentesco entre estos animales permitiría establecer esquemas de cruzamiento interesantes para el ganadero y demostraría la utilidad de las técnicas de Genética Molecular para la detección de paren-

*Arch. Zootec. 53: 99-102. 2004.*

**Tabla I.** Proporciones medias de bandas compartidas ( $x_1, x_2, x_3, x_4, x_5, x_6$ ); errores estándar ( $\pm e.e$ ); número de pares de individuos (C) y número de individuos considerado en cada grupo (n). (Mean band sharing ( $x_1, x_2, x_3, x_4, x_5, x_6$ ); standard errors ( $\pm se$ ); number of pairwise comparisons (C) and number of different individuals used in the comparisons (n) .

	Machos test	Hembras granja	Grupo control
Machos test	$x_1=0,550 \pm 0,059$ (C=6; n=4)	$x_4=0,641 \pm 0,024$ (C=28; n=11)	$x_5=0,573 \pm 0,044$ (C=12; n=7)
Hembras granja		$x_2=0,761 \pm 0,012$ (C=21; n=7)	$x_6=0,647 \pm 0,012$ (C=21; n=10)
Grupo control			$x_3=0,593 \pm 0,083$ (C=3; n=3)

tescos en grupos de individuos de pedigrí desconocido.

Las pruebas de parentesco mediante marcadores de ADN (microsatélites, SSCP's, SNP's) precisan el conocimiento de sus frecuencias alélicas en la población originaria (Jamieson, 1994). Las poblacionales originales son inaccesibles, por lo que optamos por las ya clásicas técnicas de huella dactilar genética (DNA fingerprinting). Las sondas minisatélites multilocus analizan simultáneamente varias regiones genómicas, acelerando y abaratando la resolución del problema y ya fueron utilizadas con éxito en el estudio de parentescos de conejo (Dipenaar *et al.*, 1994).

La proporción de bandas compartidas (x) entre dos individuos estima la semejanza de sus patrones de bandas y, por tanto, sus relaciones genéticas, por lo que permite descartar la existencia de relaciones genéticas entre individuos problema (Grunder *et al.*, 1994), aunque puede reflejar una semejanza específica común. Por ello introducimos un grupo control (conejos no emparentados entre sí ni con los indi-

viduos en estudio), para comparar el valor de x en un grupo de animales no emparentados, así como el valor de x entre estos individuos y las conejas de la granja, con los valores de x que muestren dichas conejas entre sí y con los machos test.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El grupo de machos test consistía en los cuatro machos indicados. Siete de las hembras (hembras de la granja) fueron escogidas aleatoriamente para las comparaciones. Los animales mostraban una edad similar y su apariencia externa sugería un origen neozelandés. Dos machos californianos de diferentes líneas y una hembra neozelandesa de otra granja distinta constituían el grupo control.

Las muestras de ADN individuales fueron digeridas con *Hae* III, sometidas a electroforesis (agarosa al 1 p.100) y transferidas a una membrana de nailon, donde se hibridaron con la sonda multilocus pV47 (Longmire *et al.*, 1990), marcada con biotina (Feinberg

## DETECCIÓN DE RELACIONES GENÉTICAS EN CONEJOS

**Tabla II.** Comparaciones múltiples para las proporciones medias de bandas compartidas ( $x_1$  a  $x_6$ ) mediante el test PLSD. (Multiple comparison for mean band sharing ( $x_1$  to  $x_6$ ) by means of Fisher's PSLD test).

Comparación de x	Diferencia observada	Valor umbral (Fisher PLSD)
$x_2$ versus $x_1$	0,211	0,098***
$x_2$ versus $x_3$	0,168	0,131***
$x_2$ versus $x_4$	0,120	0,061***
$x_2$ versus $x_5$	0,188	0,077***
$x_2$ versus $x_6$	0,115	0,065***
$x_1$ versus $x_3$	-0,043	0,150 <sup>NS</sup>
$x_1$ versus $x_4$	-0,091	0,095 <sup>NS</sup>
$x_1$ versus $x_5$	-0,023	0,106 <sup>NS</sup>
$x_1$ versus $x_6$	-0,097	0,098 <sup>NS</sup>
$x_3$ versus $x_4$	-0,048	0,128 <sup>NS</sup>
$x_3$ versus $x_5$	0,020	0,137 <sup>NS</sup>
$x_3$ versus $x_6$	-0,053	0,131 <sup>NS</sup>
$x_4$ versus $x_5$	0,068	0,073 <sup>NS</sup>
$x_4$ versus $x_6$	-0,005	0,061 <sup>NS</sup>
$x_5$ versus $x_6$	-0,073	0,077 <sup>NS</sup>

\*\*\*significativo al nivel de significación  $\alpha^* = 0,0033$ .  
<sup>NS</sup>no significativo para dicho nivel de significación.

y Vogelstein, 1983; Hodgson y Fisk, 1987). Las bandas de hibridación fueron visualizadas usando el kit BluGene (BRL Life technologies).

El programa DNA-POP (Pena y Nunes, 1990) se utilizó para establecer seis valores de x, que son proporciones medias de bandas compartidas:  $x_1$  (entre machos test),  $x_2$  (entre hembras de la granja),  $x_3$  (entre individuos del grupo control),  $x_4$  (para los pares posibles macho test-hembra de la granja),  $x_5$  (para los pares posibles macho test-individuo del grupo control),  $x_6$  (para los pares posibles hembra de la granja-

individuo del grupo control).

Sus comparaciones se realizaron (programa STATVIEW SE+GRAPHICS) mediante ANOVA a una vía seguido por el test de la diferencia mínima significativa protegida de Fisher (PLSD). El nivel de significación  $\alpha^*$  para cada comparación *a posteriori* depende del número N de comparaciones a realizar ( $\alpha^* = \alpha/N$ ). El test PLSD proporciona el valor umbral o valor mínimo de la diferencia que debe considerarse como significativo.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sólo se consideraron las bandas entre 27590 bp y 2322 bp; cada huella individual mostró 11-21 bandas. El promedio global de bandas observadas fue de 16,786 ( $\pm 0,933$ ); para los machos test de 15,500 ( $\pm 2,061$ ), para las hembras de la granja de 18,571 ( $\pm 0,782$ ) y para el grupo control de 14,333 ( $\pm 2,404$ ).

Los valores de  $x_1$ - $x_6$  fueron elevados, superiores al 55 p.100 (tabla I), y difirieron significativamente ( $p = 0,0001$ ; ANOVA a una vía). El test PLSD (tabla II) determinó que sólo 5 de las 15 comparaciones posibles entre los valores de x eran significativas (comparaciones de  $x_2$  con los demás valores de x). La tabla II muestra también el valor umbral para el nivel de significación  $\alpha^* = 0,05/15 = 0,0033$ .

La proporción media de bandas compartidas es mucho mayor en el grupo de las hembras de la granja que en el grupo control (diferencia significativa entre  $x_2$  y  $x_3$ ). Dada la diferencia significativa entre  $x_2$  y  $x_6$ , la técnica

empleada es capaz de detectar una ausencia de parentesco entre grupos realmente no emparentados (caso del grupo de hembras de la granja y el grupo control). El grupo de hembras de la granja aparece como un grupo de individuos muy próximos genéticamente y con una consanguinidad supuestamente elevada.

La proporción media de bandas compartidas por las hembras de la explotación es significativamente más alta que la proporción media de bandas compartidas por los machos test (diferencia significativa entre  $x_2$  y  $x_1$ ). Los machos no están tan emparentados entre sí como las hembras y, por tanto, no parecen pertenecer a la misma línea que las hembras de la explotación. Además, los machos no se parecen tanto a las hembras como éstas entre sí (diferencia significativa entre  $x_2$  y  $x_4$ ).

La diferencia significativa entre  $x_2$  y  $x_5$  prueba nuevamente la capacidad de estas técnicas para diferenciar valores de  $x$  correspondientes a individuos estrechamente relacionados de valores de  $x$  correspondientes a individuos no relacionados.

Así pues, puede considerarse probado que los machos test no están relacionados con las hembras de la granja.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores desean mostrar su agradecimiento a G. Dolf por proporcionar gratuitamente la sonda pV 47, a S.D.J. Pena y a A.C. Nunes por enviar gratuitamente su programa DNA-POP y a D. Savva por su ayuda en la redacción inglesa del resumen y las cabeceras de las tablas.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Dipenaar, S.M. and J.W.H. Ferguson. 1994. Use of DNA fingerprinting in planning a breeding program for the Riverine rabbit (*Bunolagus monticularis*). *Zoo Biol.*, 13: 231-243.
- Feinberg, A.P. and B. Vogelstein, B. 1983. A technique for radiolabelling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Ann. Biochem.*, 132: 6-13.
- Grunder, A.A., M.P. Sabour and J.S. Gavora. 1994. Estimates of relatedness and inbreeding in goose strains from DNA fingerprints. *Anim. Genet.*, 25: 81-88.
- Hodgson, C.P. and R.Z. Fisk. 1987. Hybridization probe size control optimized "oligolabelling". *Nucl. Ac. Res.*, 15: 6295.
- Jamieson, A. 1994. The effectiveness of using codominant polymorphic allelic series for (1) checking pedigrees and (2) distinguishing full-sib pairs members. *Anim. Genet.*, 25: 37-44.
- Longmire, J.L., P.M. Kraemer, N.C. Brown, L.C. Hardekopf and L.L. Deaven. 1990. A new multi-locus DNA fingerprinting probe: pV47-2. *Nucl. Ac. Res.*, 18: 1658.
- Pena, S.D.J. and A.C. Nunes. 1990. DNA -POP and PATER: two simple computer analysis with DNA fingerprints. *Fingerprinting News* 2: 7-8.

*Recibido: 14-04-03. Aceptado: 19-11-03.*

*Archivos de zootecnia vol. 53, núm. 201, p. 102.*