

TRANSLOCACIÓN RECÍPROCA, rcp(9p+;14q-) EN UN CERDO DUROC X PIETRAIN CON BAJO TAMAÑO DE CAMADA AL NACIMIENTO *

Francisco Henao, DMVZ., MSc¹.; Germán Gómez L., MVZ.²;
Henry Mesa E., MVZ.³

RESUMEN

Se realizó la evaluación citogenética de un cerdo Duroc x Pietrain de 2 años de edad que al aparearse con 23 cerdas registró un promedio de tamaño de camada al nacimiento de 4.56 lechones. Las preparaciones cromosómicas se obtuvieron a partir de cultivo de linfocitos T, mediante coloración de Giemsa no diferencial, bandas GTG y proceso fotográfico Kodolith. Todas las metafases evaluadas mostraron la presencia de una translocación rcp(9p+;14q-), con puntos de rompimiento cerca al telómero del brazo corto de un cromosoma 9 y cerca al centrómero de un cromosoma 14. Este es el primer diagnóstico de una translocación recíproca en Colombia, que por su relación con la baja fertilidad del animal portador y por los antecedentes consignados en la literatura mundial, se constituye en un llamado de atención sobre la necesidad de determinar la prevalencia y el impacto de estas aberraciones en la porcicultura del país.⁴

Palabras claves adicionales: citogenética porcina, translocación recíproca, tamaño de camada, fertilidad.

* Contribución del grupo de investigación en Citogenética Veterinaria de la Universidad de Caldas. Investigación soportada económicamente por el Centro de Investigaciones y Desarrollo Científico de la Universidad de Caldas.

1. Profesor Titular Genética Animal, Líder del grupo; 2 Profesor Asistente Reproducción Animal. 3. Auxiliar de Investigación. Laboratorio de Citogenética, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas. AA. 275, Manizales, E-Mail: fhenao@cumanday.ucaldas.edu.co

ABSTRACT**RECIPROCAL TRANSLOCATION, rcp(9p+;14q-) IN A DUROC X PIETRAIN BOAR WITH REDUCED LITTER SIZE**

The cytogenetic study of a Duroc x Pietrain was carried out. The boar which was two years old had sired 4.56 piglets per litter as an average of 23 matings. The chromosome preparations were obtained from lymphocytes T cultures by means of Giemsa staining, GTG bands and Kodalith photographic procedure. All the evaluated metaphases showed a translocation rcp(9p+;14q-) with break points near the short arm's telomere of the chromosome 9 and near the centromere of the chromosome 14. This is the first diagnosis of this aberration made in Colombia, and because of its relationship with the low fertility of the carrier and due to the known background in the world literature, it becomes a reference mark on the need of determining the prevalence and the impact of this aberration in this country.

Additional index words: pig cytogenetics, reciprocal translocation, litter size; fertility.

Las translocaciones recíprocas son las aberraciones cromosómicas de mayor importancia en el cerdo doméstico (Gustavsson, 1990); son de aparición espontánea, o sea que se generan *de novo* en uno de los progenitores del cerdo portador (Kuokkanen y Mäkinen, 1987 y 1988), y causan una baja importante en los tenores de fertilidad debido a que el animal portador produce, en la meiosis, gametas con un complemento cromosómico desbalanceado, las cuales, al unirse en la fecundación con gametas de complemento normal, dan origen a embriones con monosomías y trisomías parciales (Ford y Clegg, 1969; King *et al.*, 1981; Kuokkanen y Mäkinen, 1987; 98; Popescu y Boscher, 1982)), que determinan, en la mayoría de los casos, muerte embrionaria antes o durante el período de organogénesis (King *et al.*, 1981; Popescu y Boscher, 1982) y

en otras oportunidades aparición de mortinatos con malformaciones de diversa índole (Gustavsson y Jönsson, 1992), dependiendo de los cromosomas afectados y de los segmentos de los mismos que se vean involucrados en la aberración.

El efecto de estas translocaciones sobre la producción se manifiesta en una disminución del tamaño de la camada al nacimiento, que puede oscilar entre el 25 y el 100% (Gustavsson, 1990; Bouters *et al.*, 1974; King *et al.*, 1981; Gustavsson y Jönsson, 1992; y Villagómez *et al.*, 1993; Gustavsson *et al.*, 1983; Kuokkanen y Mäkinen, 1987; Kuokkanen y Mäkinen, 1988; Popescu y Boscher, 1982; Mäkinen y Remes, 1986). Según Gustavsson (1990), el 50% de los verracos descartados en Suecia por generar camadas de bajo tamaño al nacimiento, fueron portadores de translocaciones recíprocas. El primer reporte de este tipo de translocación lo hicieron Henricson y Bäckström (1964) en un cerdo portador de un intercambio recíproco entre el brazo corto del cromosoma 11 y el brazo largo del 15, $rcp(11p+;15q-)$. Esta nomenclatura indica que se trata de una translocación recíproca (*rcp*) que ha originado un alargamiento del brazo corto del cromosoma 11 ($11p+$) y un acortamiento del brazo largo del cromosoma 15 ($15q-$). El diagnóstico anterior fue posteriormente reconfirmado por parte de Hageltorn *et al.* (1973), mediante el empleo de técnicas de coloración de mejor resolución. Más adelante Bouters *et al.* (1974) diagnosticaron una entre el brazo corto del 6 y el largo del 15, $rcp(6p+;15q-)$; Locniskar *et al.* (1976) hallaron otra que afectaba el brazo corto del 1 y el largo del 6, $rcp(1p-;6q+)$ y Hageltorn *et al.* (1976) hallaron otra localizada en los brazos largos de los cromosomas 13 y 14, $rcp(13q-;14q+)$. Madan *et al.* (1978) realizaron el quinto reporte de este tipo de aberración en un cerdo portador de una translocación entre el brazo corto del cromosoma 6 y el largo del 14, $rcp(6p+;14q-)$. Para 1985 el número de casos reportados asciende a 13 (Eldridge, 1985) y en 1990 ya se habla de más de 45 translocaciones recíprocas diagnosticadas en 8 países europeos (Gustavsson, 1990). En Latinoamérica, y particularmente en Colombia, no se ha reportado aún la presencia de este tipo de problemas en los porcinos, tal vez, por el bajo volumen de animales evaluados citogenéticamente.

Contrariamente a lo propuesto en humanos por Friedrich y Nielsen (1973), la presentación de estas translocaciones parece no ser aleatoria en cuanto a los cromosomas y a las regiones cromosómicas que afectan. Los cromosomas afectados con mayor frecuencia son el 1 y el 14, y los puntos de rompimiento de los mismos se ubican, regularmente, cerca a los telómeros o al centrómero, en bandas R-positivas (Gustavsson, 1990). De

otro lado, se plantea la duda respecto a la aparición de aberraciones de esta naturaleza en animales engendrados por padres citogenéticamente normales (Gustavsson y Jönsson, 1992) y se evidencia la necesidad de evaluar en detalle la relación entre ciertos procesos degenerativos del testículo causados por agentes diversos y alteraciones en el comportamiento meiótico de los cromosomas en animales cromosómicamente sanos en los que se ha comprobado la generación de hijos portadores de translocaciones recíprocas (Villagómez *et al.*, 1993).

Este estudio se realizó con el propósito de evaluar el complemento cromosómico de un verraco con un registro de tamaño de camada al nacimiento inferior al promedio considerado normal en la granja a la cual pertenecía.

MATERIALES Y MÉTODOS

El animal evaluado en este trabajo fue un cerdo Duroc x Pietrain de 2 años de edad, perteneciente al plantel porcícola de la Universidad de Caldas ubicado en la Granja Montelindo (Palestina, Caldas). El verraco fue apareado con 23 cerdas citogenéticamente normales, entre primero y cuarto parto (9 de primero, 8 de segundo, 3 de tercero y 3 cuarto parto) y registró un total de repeticiones del 26.09%; un promedio de tamaño de camada al nacimiento de 4.56 lechones; y un tamaño promedio de camada al destete de 3.86 lechones. El animal no evidenció anormalidad alguna durante el período en el que sirvió como reproductor ni al examen antemorten; tampoco mostró lesiones posmorten y el resultado de la evaluación histopatológica de los testículos fue normal.

La evaluación citogenética se realizó en el Laboratorio de Citogenética Veterinaria de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Caldas. Al cerdo se le colectó sangre de la vena marginal de la oreja, mediante punción con aguja múltiple y tubo con vacío, adicionado de Heparina Sódica, y con capacidad para 7 ml. A partir de las muestras de sangre venosa se realizó cultivo para linfocitos T, de acuerdo con los procedimientos rutinariamente empleados en Citogenética, modificados por Henao (1993). Para el cultivo se adicionaron, directamente con el tubo de muestreo, entre 1 y 2 ml de sangre entera a 8 ml de medio RPMI 1640 colocados en un frasco de 50 ml con tapa de rosca plástica, preparados sin

siero fetal bovino, con 0.3 g/L de L-Glutamina, con 2 g/L de bicarbonato de sodio, con 1000 U I de penicilina para cultivo celular con 1 mg de estreptomycin para para cultivo celular y con 0.3-ml de Fitohemaglutinina P (tomados de una solución de trabajo compuesta de 4.65 ml de agua estéril y 0.35 ml de la dilución inicial recomendada por la casa comercial - contenido de un frasco pequeño diluido en 5 ml de agua estéril-). La mezcla anterior se incubó a 37.5°C por 61 horas, al cabo de las cuales se trató por espacio de una hora y a la misma temperatura con 0.5 µg de Colchicina, para luego centrifugar a 1000 rpm durante 15 minutos y retirar el sobrenadante con pipeta Pasteur. El sedimento obtenido así se disgregó total y suavemente con 10 ml de solución acuosa 0.075 M de cloruro de potasio, precalentada a 37.5°C, y se incubó, a la misma temperatura, durante 40 minutos. Inmediatamente después de terminado el tratamiento anterior, se realizó prefijación mediante adición con pipeta Pasteur de 8 gotas de Fijador Carnoy (3 partes de metanol absoluto y 1 parte de ácido acético glacial), se centrifugó a 1000 rpm por 15 minutos y se eliminó el sobrenadante con pipeta Pasteur. Luego se agregó suavemente al sedimento un volumen de 8 ml de Fijador Carnoy recién preparado, a temperatura ambiental, y se dejó actuar por 15 minutos, también a temperatura ambiental; se centrifugó a 1000 rpm por 15 minutos y se eliminó el sobrenadante con pipeta Pasteur. Este último paso se repitió entre 3 y 4 veces para obtener un sedimento de color blanco que se resuspendió en una pequeña cantidad de Fijador Carnoy para producir una mezcla de aspecto lechoso claro. Mediante pipeta Pasteur, se dejaron caer de 3 a 4 gotas de la mezcla en una lámina portaobjetos nueva, lavada previamente con Fijador Carnoy y secada con gasa nueva; las láminas se dejaron secar al aire libre.

Las láminas goteadas se conservaron en un sitio oscuro a temperatura ambiental por 1 semana y se colorearon mediante tinción de Giemsa no diferencial (Silva *et al.*, 1991) y bandas GTG (Seabright, 1971 y 1972). La evaluación fotográfica se realizó utilizando proceso Kodalith. Se evaluaron 50 metafases por comparación con el cariotipo estándar propuesto por el comité para estandarización del cariotipo del cerdo doméstico (1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las metafases evaluadas del animal en cuestión permitieron evidenciar, como lo muestran las Figuras 1, 2 y 3, que se trataba de un animal con 38 cromosomas (número diploide normal del cerdo doméstico), dos de los cuales, uno del par número 9 y otro del par número 14, presentaban alteración en su morfología. El cromosoma 9 del cerdo doméstico es mediano y con marcada tendencia a ser metacéntrico, y en este caso se observó con un manifiesto alargamiento de su brazo corto; El brazo corto del cromosoma 9 tenía una longitud que superaba la normal en alrededor de un 150%, razón por la cual se aprecia en las Figuras 1, 2, 3 y 4 como un cromosoma submetacéntrico de tamaño similar al cromosoma 1. Con respecto al cromosoma 14, normalmente es un cromosoma acrocéntrico de tamaño mediano; en este caso uno de los cromosomas del par 14 se redujo a un pequeño cromosoma acrocéntrico del tamaño del brazo corto del cromosoma Y. La porción restante de este cromosoma 14 corresponde en longitud con el alargamiento experimentado por el cromosoma del par número 9, por lo que se concluye que se trata de una translocación recíproca entre un pequeño segmento telomérico del brazo corto de un cromosoma 9 y un segmento de gran longitud (entre 80 y 90% de la longitud total del cromosoma 14) de un cromosoma número 14, la cual se nombra como $rcp(9p+;14q-)$. A su vez, el cariotipo del cerdo se puede presentar así: $38,XY,rcp(9p+;14q-)$.

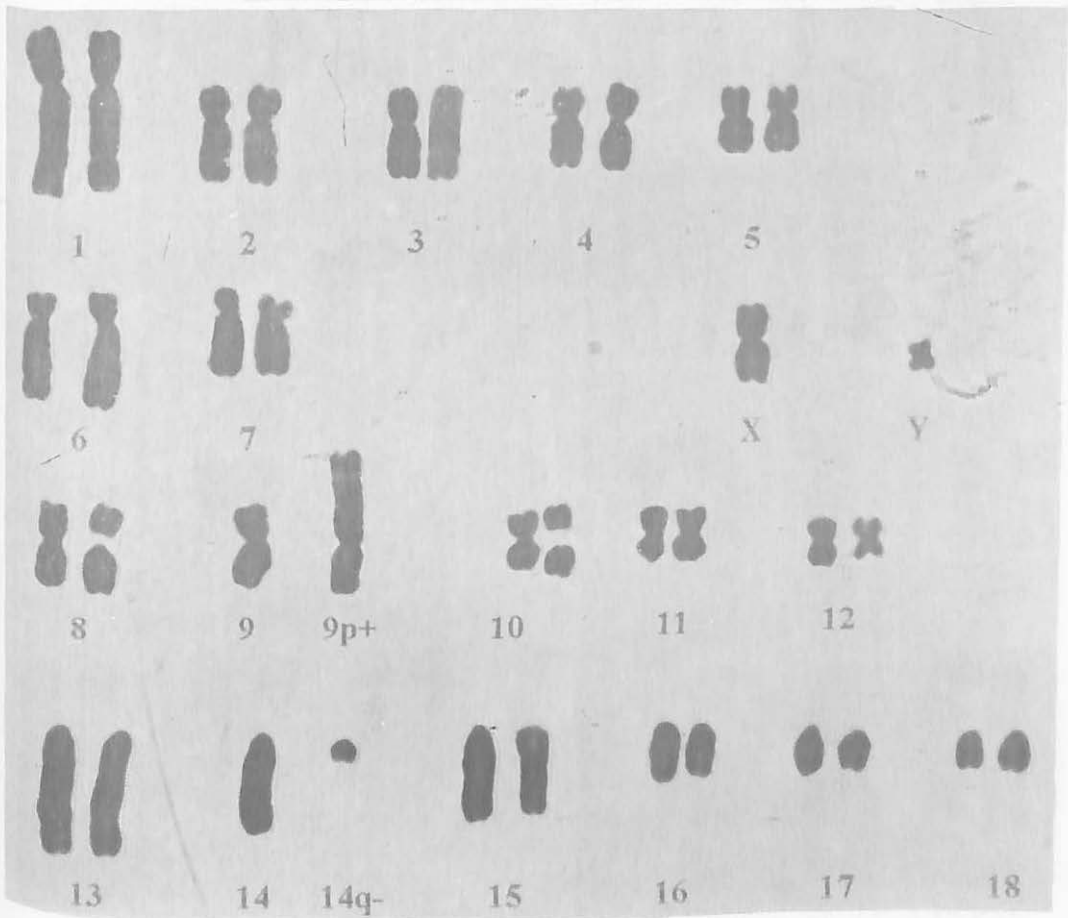
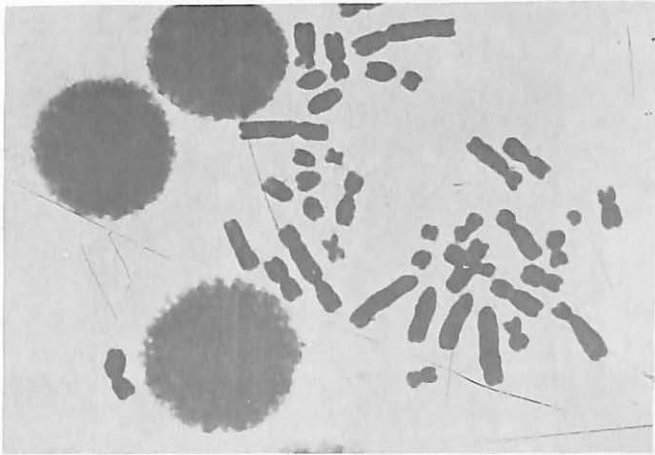


FIGURA 1. Cariotipo de un cerdo 38,XY,rcp(9p+;14q-). Coloración Giemsa no diferencial.

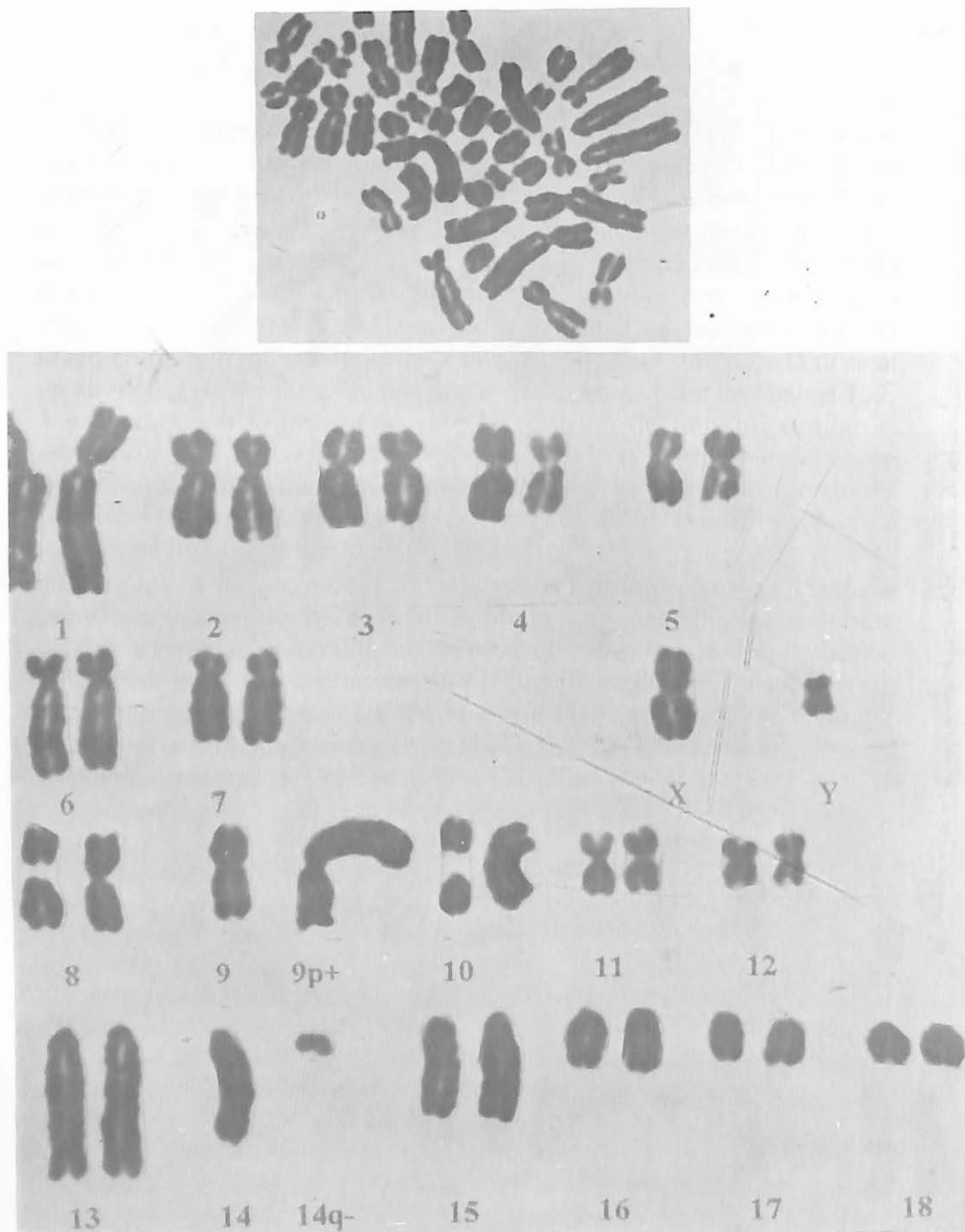


FIGURA 2. Cariotipo de un cerdo 38,XY,rcp(9p+;14q-). Coloración Giemsa no diferencial

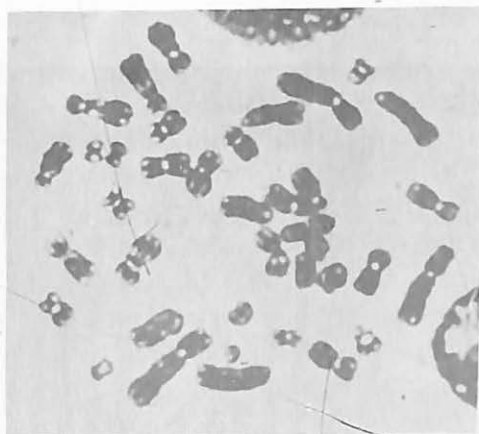


FIGURA 3. Cariotipo de un cerdo 38,XY,rcp(9p+;14q-). Bandas GTG.

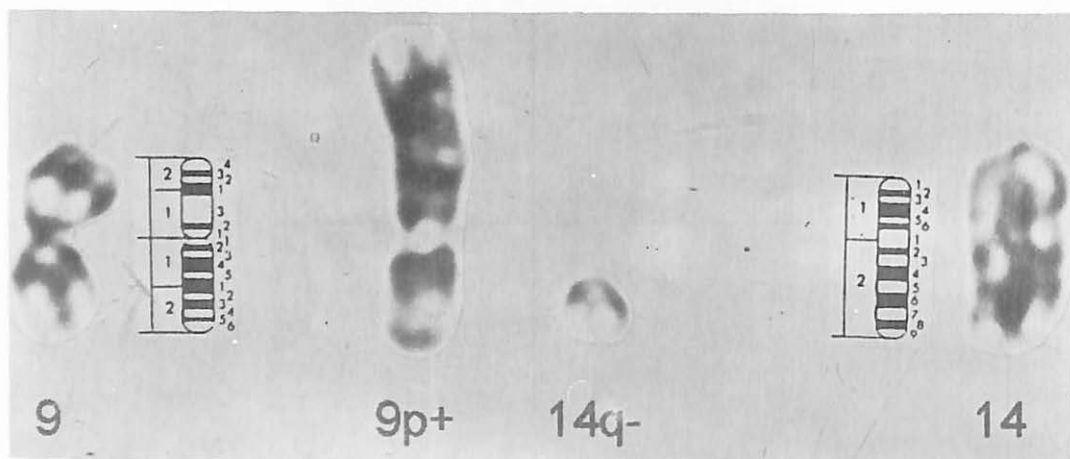


FIGURA 4. Bandas GTG de los cromosomas afectados por la translocación rcp(9p+;14q-) de un cerdo Duroc X Pietrain. Referencia, cariotipo estándar propuesto por el "Committee for the Standardized of the Karyotype of the Domestic Pig" (1988)

En las Figuras 3 y 4 se aprecian las bandas GTG correspondientes al complemento cromosómico completo y a los dos cromosomas que aparecen alterados en el mismo. La longitud de los segmentos afectados, al igual que la distribución de las bandas confirman, que se trata de una translocación rcp(9p+;14q-) con los puntos de rompimiento ubicados aproximadamente en la banda p24 del cromosoma 9 y en la banda q14 del cromosoma 14.

El presente reporte corresponde al primer caso de translocación recíproca en cerdo doméstico diagnosticado en Colombia. Este caso concuerda con lo planteado por Gustavsson (1990), respecto a los cromosomas afectados y a la ubicación de los puntos de rotura, debido a que la translocación se ha generado por el rompimiento de un cromosoma 9 cerca del telómero de su brazo corto y por un segundo rompimiento de un cromosoma 14 por un sitio muy próximo al centrómero, en ambos casos por bandas presumiblemente R-positivas.

El elevado porcentaje de repetición de servicios (26.09) y el bajo promedio de tamaño de camada al nacimiento (4.56 lechones) se explican por la alteración que una translocación de esta naturaleza provoca en los productos de la meiosis del animal portador (Ford y Clegg, 1969, y King, 1981); comparativamente con 4 productores contemporáneos del cerdo problema, la baja en fertilidad es superior al 50%, dado que aquéllos

registraron un promedio de tamaño de camada al nacimiento de 9.207 lechones; por esta razón se puede asumir que la mayoría de las gametas del cerdo evaluado fueron parcialmente monosómicas o parcialmente trisómicas para uno de los dos cromosomas afectados (el 9 ó el 14). Según lo expuesto por Gustavsson y Jönssön (1992) y de acuerdo con lo reportado por King *et al.* (1981) y Popescu y Boscher (1982), por el tamaño del segmento translocado del cromosoma 14, el bajo promedio del tamaño de camada al nacimiento debió originarse en muertes embrionarias ocurridas en una etapa próxima a la fase de organogénesis, o sea, antes del día 25 de la gestación. Esta suposición se antoja viable porque el segmento translocado del cromosoma 14 equivale a casi el 90% del mismo y en él deben estar contenidos genes posiblemente vitales para el desarrollo del embrión.

El origen de la traslocación encontrada en esta oportunidad no se conoce debido a que no se contó con la evaluación citogenética de los padres del animal estudiado; sin embargo, en atención a lo expuesto por la mayoría de los estudiosos de este tema (Gustavsson y Jönssön, 1992), es posible asumir que esta vez se trata, también, de una aberración de aparición espontánea, o sea, originada *de novo* en una falla en el proceso de gametogénesis de uno de los padres del animal problema. La anterior suposición tiene sustento en la procedencia del cerdo, dado que en el momento de su selección se verificó que el comportamiento reproductivo y productivo de sus padres fuera normal; es relativamente claro que si en los registros de los padres, al menos en el de tamaño de camada al nacimiento, no se evidenció una cifra anormalmente baja, no deberían ser portadores de problemas de este tipo (Kuokkanen y Mäkinen, 1987 y 1988).

Con base en lo hallado en este estudio, y por los antecedentes bibliográficos referidos, es pertinente afirmar que la porcicultura colombiana debe estar siendo atacada por los efectos nocivos sobre la reproducción de las translocaciones recíprocas. Se hacen necesarios, por tanto, estudios inmediatos orientados a establecer la prevalencia y el impacto de este tipo de aberración en nuestras porcícolas, y a evaluar factores de riesgo que puedan estar contribuyendó a la generación de la misma.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Bouters, R.; Bonte, P.; Spincemaille, J.; Vandeplassche, M.** 1974. Het chromosomenonderzoek bij de huisdieren II. De afwijkingen in de geslachtschromosomen als oorzakelijke of begeleide factor van onvruchtbaarheid. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.* **43**: 85-91.
2. **Committee for the Standardized Karyotype of the Domestic Pig.** 1988. Standard Karyotype of the Domestic Pig. *Hereditas* **109**: 151-157.
3. **Eldridge, F. E.** 1985 *Cytogenetics of Livestock.* Avi Publishing Company, pp. 219-242.
4. **Ford, C. E.; Clegg, H. M.** 1969. Reciprocal translocation. *Br. Med. Bull.* **25**: 110-114.
5. **Friedrich, U.; Nielsen, J.** 1973. Break points in reciprocal autosomal translocations. *Hereditas* **74**: 141-144.
6. **Gustavsson, I.** 1990. Chromosomes of the pig. In: *Domestic animal cytogenetics. Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*, vol. 34 (ed. R. A. McFeely) Academic Press, pp 73-107.
7. **Gustavsson, I.; Jönssön, L.** 1992. Stillborns, partially monosomic and partially trisomic, in offspring of a boar carrying a translocation: rcp (14;15)(q29;q24). *Hereditas* **117**: 31-37.
8. **Gustavsson, I.; Settergren, I.; King, W. A.** 1983. Occurrence of two different reciprocal translocations in the same litter of domestic pigs. *Hereditas* **99**: 257-267.
9. **Hageltorn, M.; Gustavsson, I., Zech, L.** 1973. The Q- and G- banding patterns of a t(11p+;15q-) in the domestic pig. *Hereditas* **75**: 147-151.
10. **Hageltorn, M.; Gustavsson, I.; Zech, L.** 1976. Detailed analysis of a reciprocal translocation (13q-;14q+) in the domestic pig by G- and Q- staining techniques. *Hereditas* **83**: 268-272.

13. **King, W. A.** 1981. Meiotic behaviour of a rcp(13q-;14q+) translocation in heterozygous pigs. *Hereditas* **94**: 235-240.
14. **King, W. A.; Gustavsson, I.; Popescu, C. P.; Linares, T.** 1981. Gametic products transmitted by rcp(13q-;14q+) translocation heterozygous pigs, and resulting embryonic loss. *Hereditas* **95**: 239-246.
15. **Kuokkanen, M.-T.; Mäkinen, A.** 1987. A reciprocal translocation (7q-;12q+) in the domestic pig. *Hereditas* **106**: 147-149.
16. **Kuokkanen, M.-T.; Mäkinen, A.** 1988. Reciprocal chromosome translocations (1p-;11q+) and (1p+;15q-), in domestic pigs with reduced litter size. *Hereditas* **109**: 69-73.
17. **Ločnikar, I.; Gustavsson, I.; Hageltorn, M.; Zech, L.** 1976. Cytological origin and points of exchange of a reciprocal translocation (1p-;6q+) in the domestic pig. *Hereditas* **83**: 272-275.
18. **Madan, K.; Ford, C. E.; Polge, C.** 1978. A reciprocal translocation, t(6p+;14q-), in the pig. *J. Reprod. Fertil.* **53**: 395-398.
19. **Mäkinen, A.; Remes, E.** 1986. Low fertility in pigs with rcp(4q+;13q-) translocation. *Hereditas* **104**: 223-229.
20. **Popescu, C. P.; Boscher, J.** 1982. Cytogenetics of preimplantation embryos produced by pigs heterozygous for the reciprocal translocation (4q+; 14q-). *Cytogenet. Cell Genet.* **34**: 119-123.
21. **Seabright, M.** 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* *ii*: 971-972.
22. **Seabright, M.** 1972. The use of proteolytic enzymes for the mapping of structural rearrangements in the chromosomes of man. *Chromosoma (Berl.)* **36**: 204-210.
23. **Silva, E.; Crane, C.; Bermudez, A. J.; Bueno, M. L.; Pedraza, X.; Giraldo, A.** 1991. *Citogenética Humana. Manual de Procedimientos.* Instituto Nacional de Salud, Col.
24. **Villagómez, D. A. F.; Gustavsson, I. Alabay, B.; Plöen, L.** 1993. Meiotic chromosome asynapsis in a boar with a reciprocal translocation and acquired testicular degeneration. *Hereditas* **118**: 101-111.