

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DEL CERDO DOMÉSTICO EN EL DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA (COLOMBIA) UTILIZANDO MARCADORES MICROSATÉLITES

E. Pardo¹, H. Maya², G. Alvarino²

Artículo recibido: 24 de marzo de 2015. Aprobado: 5 de octubre de 2015

RESUMEN

En este estudio se analizaron los niveles de diversidad y estructura genética de 161 cerdos domésticos pertenecientes a tres poblaciones del departamento de Córdoba, mediante 20 marcadores microsatélites. Todos los microsatélites utilizados resultaron polimórficos. Para todos los *loci*, el valor promedio de la heterocigosidad esperada fue mayor al valor promedio de la heterocigosidad observada, lo cual puede sugerir una posible endogamia en el sistema de apareamiento. El índice F_{ST} ($0,12 \pm 0,08$) mostró un 88% de la varianza en las frecuencias alélicas reportadas dentro de cada población y solo el 12% de la varianza atribuible a diferencias entre poblaciones. Los valores de F_{IS} (0,079) y F_{IT} (0,13), indican deficiencia de heterocigotos dentro de cada población y a nivel global. Desviaciones significativas del equilibrio Hardy-Weinberg ($p < 0,05$) fueron observadas en ocho de los marcadores utilizados. El árbol Neighbor-Joining obtenido reveló que Momil estuvo más estrechamente relacionada con Cereté, mientras Tierralta se mostró más alejada. El análisis de componentes principales (ACoP) genera la individualización geográfica de cada población, siendo distante la población de Tierralta de las poblaciones Momil y Cereté, resultados similares a los obtenidos con la metodología Neighbor-Joining. El programa Structure con un $K = 3$, confirma la existencia de tres grupos o poblaciones distintas, generándose un patrón filogeográfico observado en la relación entre Momil, Cereté y Tierralta. Es importante señalar que son 3 grupos raciales diferentes, valiosos y deben conservarse.

Palabras Clave: Alelos, diversidad genética, estructura poblacional, marcadores microsatélites.

¹ Departamento de Biología, Universidad de Córdoba. Carrera 6 No. 76-103. C.P. 230002. Montería, (Colombia).

² Departamento de Física y Electrónica. Universidad de Córdoba. Carrera 6 No. 76-103. C.P. 230002. Montería (Colombia).

* Autor para correspondencia: epardop@correo.unicordoba.edu.co

STUDY OF GENETIC DIVERSITY OF THE DOMESTIC PIG IN THE DEPARTMENT OF CÓRDOBA (COLOMBIA) USING MICROSATELLITE MARKERS

ABSTRACT

Diversity and genetic structure of 161 domestic pigs from three populations of the department of Córdoba, were analyzed by means 20 microsatellite markers; all of them were polymorphic microsatellites. The expected average value of heterozygosity was higher than the observed average value for all loci, which may suggest a possible inbreeding mating system. The F_{ST} index (0.12 ± 0.08) showed 88% of variance in allele frequencies reported within each population and only 12% of the variance was attributable to differences between populations. F_{IS} values (0.079) and F_{IT} (0.13) indicate heterozygote deficiency within each population and globally. Significant deviations from Hardy-Weinberg balance ($p < 0.05$) were observed in eight of the markers used. The Neighbor-Joining tree showed that Momil was more closely related with Cereté while Tierralta was further. The main components analysis (ACoP) generates the geographical identification of each population, being more far Tierralta from Momil and Cereté populations, similar results were obtained with the Neighbor-Joining method. The Structure program with $K = 3$, confirms the existence of three groups or different populations, which generates a phylogeographic pattern observed in the relationship between Momil, Cereté and Tierralta. It is important to note that there are 3 different racial groups, valuable and must be preserved.

Key words: Alleles, genetic diversity, population structure, microsatellite markers.

INTRODUCCIÓN

El cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica*) se ha criado en su gran mayoría en comunidades suburbanas y rurales desde su introducción a Colombia por Sebastián de Belalcazar, quien los transportó en su expedición inicial en 1536 (Patiño 1970). Cabeza (1977) sugiere que los primeros cerdos fueron introducidos al departamento de Córdoba alrededor de los años 1500-1550, durante la época de la conquista, procedente de la raza española conocida como Lampiña o Pelada.

El departamento de Córdoba (Colombia) es una de las regiones con mayor número de cerdos, ocupando el sexto lugar en población de porcinos después de Antioquia, Cundinamarca, Valle, Boyacá

y Meta con un total de 145.561 animales (ICA 2015).

A través de la historia, el cerdo doméstico ha sido, base importante de la economía y fuente de proteína del campesino cordobés. Aunque existen dos formas de explotación, en Córdoba predomina la forma artesanal, donde en pequeñas fincas poco tecnificadas se crían cerdos sin técnicas adecuadas de nutrición, manejo y sanidad, donde los animales normalmente subsisten en pastoreo, con libre paso a las viviendas de los campesinos. Su alimentación en la fase de crecimiento (20 a 24 meses), se basa especialmente en la ingesta de desperdicios de cocina y sobrantes de cosecha (plátano, yuca, ñame etc.) por lo que se crían débiles, enfermos y con bajo

rendimiento. Finalmente es sostenido con maíz dos o tres meses más antes del sacrificio, cuando ha alcanzado casi 2 años y medio de edad y un peso de 80 a 100 kilos (Oslinger 2003).

La cría de esta especie ha sido una actividad que además de haberse mantenido por mucho tiempo, juega un papel importante en el aporte de alimento e ingresos a las familias campesinas. Los cerdos, al desarrollar mecanismos de adaptación al trópico, lograron producir y reproducirse, contrarrestando factores desfavorables tales como: desnutrición, escasez de agua, cruzamientos desfavorables, resistencia a enfermedades y manejo precario (Oslinger 2003).

El estudio de polimorfismos de ADN mediante PCR (Mullis y Faloona 1987), consiste en la amplificación *in vitro* de un fragmento de ADN específico. La PCR es la técnica más utilizada para el estudio de marcadores ampliamente polimórficos, como son los microsatélites, que constituyen segmentos de ADN, quienes son una fuente de marcadores de gran valor debido a su abundancia, a su polimorfismo y a su amplificación relativamente sencilla por medio de la PCR (Sun *et al.* 1995).

En Colombia es escasa la información genético-poblacional sobre el cerdo doméstico, a excepción de los trabajos realizados por Oslinger *et al.* (2003) en Colombia y Pardo *et al.* (2014) en Momil, Córdoba, por lo que se hace necesario prestarles atención especial, para así poder identificar su situación genética. En la presente investigación se estudió la variabilidad genética de tres poblaciones del cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica*) en Córdoba (Colombia) utilizando microsatélites para identificar su situación genética.

Las poblaciones de cerdo doméstico constituyen un reservorio de variabilidad

genética que debe ser estudiado; la información derivada en este sentido será útil para fines de conservación y manejo de la producción tradicional. El objetivo del presente estudio fue evaluar la diversidad y estructura genética de tres poblaciones de cerdo doméstico en el departamento de Córdoba, empleando marcadores microsatélites.

MATERIALES Y METODOS

Sitio de estudio: Muestras de cerdos pertenecientes a poblaciones de Momil (9° 14' 16" N y 75° 36' 30" W), Cereté (08° 53' 08" N y 75° 47' 48" W) y Tierralta (8° 10' 34" Norte y 76° 03' 46" Oeste), Córdoba (Colombia).

Recolección de la muestra: Las muestras se tomaron en el periodo comprendido entre enero y junio de 2014. Las muestras de pelo de 161 individuos fueron colectadas de pequeñas granjas familiares así: 45 individuos en Momil, 62 en Cereté y 54 en Tierralta. Se utilizó como criterio de inclusión en el estudio individuos juveniles y adultos mayores a 9 meses. Por tratarse de animales provenientes de explotaciones familiares no se cuenta con datos de genealogía.

Procedimiento experimental: De cada muestra se extrajo el ADN mediante una modificación al protocolo de Sambrook y Russell (2001). A cada tubo se añadió 500 µl de buffer de digestión (10 mM tris HCl, 50 mM NaCl, 10mM EDTA, 2% SDS), 40 mM de ditriotreitol y 0.4 mg/ml de proteinasa K (Invitrogen), luego se incubaron entre 6, 12 y 24 horas a 58°C. Si el tiempo de incubación fue superior a 6 horas, nuevamente se adicionó proteinasa K y ditriotreitol. A continuación, las muestras se agitaron con un vortex y el sobrenadante se trans-

firió a un nuevo vial donde se adicionó un volumen igual de fenol-cloroformo-isoamílico en proporción 25:24:1. Se centrifugó a 13000 rpm (revoluciones por minuto) durante 6 minutos a temperatura ambiente y se transfirió la fase superior a un nuevo vial. Se agregó 400 µl de N-Butanol saturado con agua para eliminar el cloroformo y se centrifugó a 13000 rpm durante 6 minutos a temperatura ambiente y se descartó la fase superior sin desechar la inferior donde se encuentra el ADN. A continuación se adicionó 1/10 de volumen de acetato de sodio 2M y un volumen de etanol absoluto a 20°C. Se realizó la mezcla por inversión de los componentes y nuevamente se centrifugó a 13000 rpm durante 6 minutos a 4 °C para posteriormente descartar el sobrenadante.

El botón de ADN se lavó con 200 µl de etanol al 70%, se centrifugó a 13000 rpm durante tres minutos, se descartó el etanol y el tubo se dejó secar colocándolo invertido sobre papel toalla. Se utilizaron cuatro microsatélites recomendados por la FAO/ISAG y 16 marcadores seleccionados por abarcar el genoma porcino (Tabla 1). Luego se amplificó cada marcador mediante la técnica del PCR en las 161 muestras recolectadas, en un volumen final de 25 µl que incluyó 10 µl de dNTPs 100 µl, 2,5 µl de amortiguador 10X, 1,0 µl de MgCl₂ 25 mM, 3,0 µl de cebadores específicos de cada locus de 10 pmol, 0,3 µl de enzima Taq ADN polimerasa a una concentración de 1 U/µl, 4,0 µl de ADN genómico a una concentración de 50 ng/µl y 4,2 µl de agua bidestilada esterilizada.

TABLA 1. Información de los microsatélites del cerdo doméstico tipificados en tres poblaciones de Córdoba.

Marcador	Cromosoma	Repetición	Rango alélico. (pb)	Temperatura de anillamiento
<i>SW489</i>	4	(GT) ₁₆	148 – 181	58°C
<i>SW2519</i>	14	(CA) ₂₀	187 – 232	60°C
<i>SW780</i>	1	(GT) ₁₁ (GA) ₉	115 – 170	56°C
<i>SW2083</i>	15	(GT) ₁₀	143 – 167	58°C
<i>SW2019</i>	7	(GT) ₁₄ AT(GT) ₄	127 – 147	56°C
<i>SW2410</i>	8	(GT) ₁₅	103 – 137	60°C
<i>S0215</i>	13	(CT) ₁₈ (CA) ₁₂	125 – 194	62°C
<i>SW72</i>	3	(GT) ₁₅	97 – 119	60°C
<i>SW911</i>	9	(CA) ₂₂	147 – 177	58°C
<i>IFNG</i>	5	(GA) ₁₁	221 – 245	62°C
<i>SW1041</i>	10	(CA) ₉	93 – 101	56°C
<i>SWR345</i>	2	(CA) ₁₂	134 – 160	58°C

Marcador	Cromosoma	Repetición	Rango alélico. (pb)	Temperatura de anillamiento
<i>TNFB</i>	7	(CTG) ₂₀	142 – 203	58°C
<i>S0385</i>	11	(CA) ₂₁	145 – 192	58°C
<i>SW787</i>	18	(CA) ₁₉	144 – 164	60°C
<i>S0090</i>	12	(CA) ₂₄	227 – 251	62°C
<i>SW1083</i>	7	(GT) ₁₅	108 – 152	56°C
<i>SW957</i>	12	(GT) ₂₈	112 – 157	56°C
<i>SW2427</i>	17	(GT) ₁₃	116 – 146	56°C
<i>SW1067</i>	6	(CT) ₂₀ (CA) ₂₂	137 – 175	58°C

La reacción de PCR se realizó en un termociclador Mycycler Bio-Rad® y consistió de una fase de desnaturalización de 95°C durante 5 minutos, 35 ciclos de 30 segundos de desnaturalización a 94°C, 30 segundos a temperatura óptima de anillamiento, dependiendo del marcador (Tabla 1) y 50 segundos de extensión a 72°C. Finalmente, una fase de extensión de 5 minutos a 72°C. Para la separación de los fragmentos obtenidos se realizó una electroforesis en gel de poliacrilamida en un secuenciador automático ABI 377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Análisis estadístico: Para el análisis de fragmentos y la tipificación alélica se utilizaron respectivamente los programas Genescan Analysis® 3.1.2 y Genotyper® 2.5.2. Los alelos fueron analizados para determinar el número promedio de alelos por locus y la heterocigosidad observada (H_o) y la heterocigosidad esperada (H_e), mediante el programa Genetix v. 4.02 (Belkhir *et al.* 1999), se calcularon las frecuencias alélicas y las heterocigosidades. Se utilizó el programa GENEPOP v. 4.0.10 (Raymond y Rousset 1995) para evaluar el equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) y medir el coeficiente de fijación

de un individuo dentro de una subpoblación (F_{IS}), el coeficiente de fijación de un individuo en la población total (F_{IT}) y el coeficiente de fijación de una subpoblación en la población total (F_{ST}).

Análisis de comparación: La similitud entre las poblaciones fue calculada mediante el uso del software MEGA 4 (Tamura *et al.* 2007) para la edición del árbol filogenético. Con las distancias genéticas de Nei D_A (Nei *et al.* 1978), se construyó un dendrograma mediante el método de Neighbor-Joining que resume las relaciones genéticas entre las poblaciones estudiadas. Asimismo, se realizó un análisis de componentes principales (ACoP) a partir de una matriz de distancia genética (Huff *et al.* 1993), utilizando GenALEX 6.5 (Peakall y Smouse 2006). Además, los grupos fueron identificados usando el método Bayesiano implementado en el software Structure versión 2.3.1 (Pritchard *et al.* 2010), con 10,000 periodos eliminados y 20,000 iteraciones.

RESULTADOS

La diversidad genética medida en términos de variabilidad alélica, mostró a todos los

loci analizados altamente polimórficos. La variabilidad genética de los microsatélites se resume en la Tabla 2. En las poblaciones estudiadas se observaron un total de 207 alelos detectados en los 20 loci, con un promedio de alelos (NA+DE) de $10,3 \pm 0,93$ (Tabla 2). El marcador *SW1041* fue el de mayor polimorfismo con 16 alelos, mientras el locus *S0385* mostró el menor polimorfismo con 6 alelos. La heteroci-

gosisidad observada y la heterocigisidad esperada oscilaron entre 0,3373 (*S0090*) a 0,8916 (*SW489*) y 0,5610 (*S0385*) a 0,8879 (*SW911*), respectivamente. Para todos los loci, el valor promedio de la heterocigisidad esperada fue mayor al valor promedio de la heterocigisidad observada (Tabla 2), lo cual puede sugerir una posible endogamia en el sistema de apareamiento.

TABLA 2. Parámetros básicos de diversidad genética para los 20 marcadores microsatélites utilizados en este estudio.

LOCUS	NA ^a	HETEROCIGISIDAD		ESTADISTIOS F		
		OBSERVADA	ESPERADA	FIS ^b	FST ^c	FIT ^d
<i>SW489</i>	10	0,8916	0,8472	-0,1435	0,0784	-0,0539
<i>SW2519</i>	8	0,7470	0,8440	-0,0070	0,1191	0,1130
<i>SW780</i>	12	0,8554	0,8681	-0,0814	0,0824	0,0077
<i>SW2083</i>	12	0,8072	0,8686	-0,0047	0,0681	0,0637
<i>SW2019</i>	8	0,6867	0,8224	0,2424	0,1099	0,1476
<i>SW2410</i>	10	0,6627	0,7081	-0,0250	0,0861	0,0633
<i>S0215</i>	8	0,6506	0,7038	-0,1441	0,1991	0,0836
<i>SW72</i>	13	0,7590	0,8225	0,0465	0,0659	0,0720
<i>SW911</i>	12	0,7349	0,8879	-0,0066	0,1765	0,1710
<i>IFNG</i>	15	0,7108	0,8346	-0,0537	0,1855	0,1418
<i>SW1041</i>	16	0,6386	0,7182	0,5055	0,0991	0,1041
<i>SWR345</i>	7	0,6867	0,6760	-0,1557	0,1152	-0,0225
<i>TNFB</i>	12	0,4699	0,7225	0,4529	0,3264	0,3620
<i>S0385</i>	6	0,3614	0,5610	0,4545	0,2318	0,3474
<i>SW787</i>	11	0,7831	0,8426	-0,0562	0,1145	0,0647
<i>S0090</i>	8	0,3373	0,8205	0,5634	0,0597	0,5895
<i>SW1083</i>	10	0,7349	0,8644	0,0681	0,0753	0,1383
<i>SW957</i>	10	0,7229	0,8061	-0,0055	0,1028	0,0978

LOCUS	NA ^a	HETEROCIGOSIDAD		ESTADÍSTIOS F		
		OBSERVADA	ESPERADA	FIS ^b	FST ^c	FIT ^d
SW2427	7	0,6867	0,7864	-0,0856	0,1873	0,1177
SW1067	12	0,7952	0,8537	0,0117	0,0516	0,0627
Media	10,35	0,6860	0,7929	0,0791*	0,1232**	0,1302*
Desv. Stand.	0,93	0,1451	0,0821	0,0822	0,0831	0,0848

^aNúmero de alelos; ^bCoefficiente de fijación de los individuos respecto a las subpoblaciones; ^cÍndice de diferenciación genética entre subpoblaciones; ^dCoefficiente de fijación de los individuos respecto a la población total.

*($p < 0,05$) diferencia significativa; ** ($p < 0,01$) diferencia altamente significativa.

El índice de fijación de Wright para los valores de F_{IS} (Tabla 2) varió entre -0,1557 para el marcador *SWR345* y 0,5634 para el marcador *S0090*. Doce de los 20 marcadores presentan signo negativo indicando exceso de heterocigotos y 8 presentan signo positivo. El F_{IS} promedio encontrado fue de $0,079 \pm 0,08$ y el estadístico F_{IT} (Tabla 2) fluctuó entre -0,0539 para el marcador *SW489* y 0,5895 para el marcador *S0090*. Dieciocho de los 20 marcadores presentan signo positivo indicando exceso de homocigotos y 2 presentan signo negativo. El F_{IT} promedio encontrado fue de $0,1302 \pm 0,08$ (Tabla 2). El estadístico F_{ST} total ($0,12 \pm 0,08$) calculado para todos los loci y para todas las poblaciones de cerdos mostró un 88% de la varianza en las frecuencias alélicas reportadas dentro de cada población y solo el 12% de la varianza se atribuye a diferencias entre las poblaciones. El valor F_{IS} Total ($0,079 \pm 0,08$) indica deficiencia de heterocigotos dentro de cada población; este índice es una medida indirecta de consanguinidad y concuerda con los resultados obtenidos

mediante las pruebas de EHW (Tabla 3). Estos valores indican un alejamiento de las condiciones esperadas en una población cuyos cruzamientos se realizan al azar. Al considerar el pool génico de las tres poblaciones (Momil, Cereté y Tierralta), se observa un déficit mayor de genotipos heterocigotos ($F_{IT} = 0,13$), lo que podría señalar cierta estructuración poblacional (Tabla 2). Desviaciones significativas del equilibrio Hardy-Weinberg ($p < 0,05$) fueron observadas en las tres poblaciones en los marcadores *SW2019*, *SW1041*, *SW180*, *SW1067*, *SW489*, *SWR345*, *S0090* y *SW1067*. La variación genética a través de las poblaciones se resume en el Tabla 3. Esta variación fue mayor para la población Tierralta ($NA+DE$, $6,9 \pm 0,57$; H_O , $0,7121 \pm 0,05$; H_e , $0,8296 \pm 0,02$), le siguió la población de Cereté ($NA+DE$, $6,7 \pm 0,59$; H_O , $0,6750 \pm 0,06$; H_e , $0,7995 \pm 0,02$) y la menor variación la mostró la población de Momil ($NA+DE$, $5,2 \pm 0,66$; H_O , $0,6700 \pm 0,04$; H_e , $0,7496 \pm 0,03$). Mediante el análisis de comparación se obtuvo la relación genética, árboles

filogenéticos y estructura poblacional: la Tabla 4 muestra la matriz de distancias genética entre pares de poblaciones. El árbol Neighbor-Joining obtenido a partir de la distancia genética de Nei D_A (Nei *et al.* 1983) reveló a Momil más

estrechamente relacionada con Cereté, mientras Tierralta se mostró más alejada (Figura 1). Estos hallazgos indican que los cerdos nativos de Momil y Cereté, deben clasificarse como genéticamente más relacionados.

TABLA 3. Variabilidad Genética para 20 *loci* microsatélites en tres poblaciones de cerdos

	ALELOS POR LOCUS ^a	HETEROCIGOSIDAD		dEHW ^b
		OBSERVADA	ESPERADA	
Momil	5,2 ± 0,66	0,6700 ± 0,04	0,7496 ± 0,03	4
Cerete	6,7 ± 0,59	0,6750 ± 0,06	0,7995 ± 0,02	4
Tierralta	6,9 ± 0,57	0,7121 ± 0,05	0,8296 ± 0,02	4

Los valores son la media ± desviación estándar, ^anúmero de alelos promedio por locus y ^bnúmero de *loci* desviados del equilibrio Hardy-Weinberg.

TABLA 4. Distancias genéticas de Nei D_A (Nei *et al.* 1983) estimadas para tres poblaciones de cerdo doméstico basadas en frecuencias alélicas

	MOMIL	CERETÉ	TIERRALTA
Momil	-----		
Cereté	0,4879	-----	
Tierralta	0,7601	0,6765	-----

El análisis de componentes principales (ACoP) muestra como los dos primeros componentes principales representan el 53,65% y 36,05% de la variación total respectivamente (Figura 2). La inspección de la gráfica genera la individualización

geográfica de cada población, siendo distante la población de Tierralta de las poblaciones Momil y Cereté. Los resultados del ACoP son similares a los obtenidos en el árbol filogenético obtenido con la metodología Neighbor-Joining.

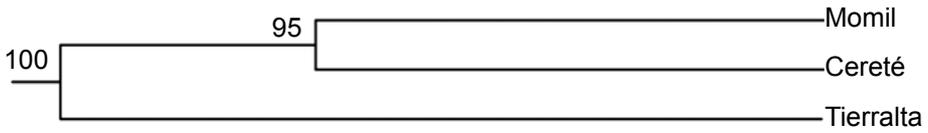


FIGURA 1. Árbol filogenético Neighbor-Joining basado en la distancia genética de Nei DA (Nei *et al.* 1978) para tres poblaciones de cerdo doméstico en Córdoba, Colombia. Se muestra el soporte de *bootstrap* en los nodos.

Con el programa Structure y utilizando información a priori de la zona geográfica donde se realizó el estudio, los resultados analizados mediante el estadístico ΔK (Evanno *et al.* 2005) se encontró $K=3$ (Figura 3), los resultados sugieren la existencia de tres grupos o poblaciones, lo cual apoya la presencia

de tres grupos genéticamente distintos generando un patrón filogeográfico observado en la relación de las poblaciones de Momil y Cereté cercanas geográficamente con respecto a la población de Tierralta (Figura 4), lo que confirma los resultados obtenidos previamente con el ACoP.

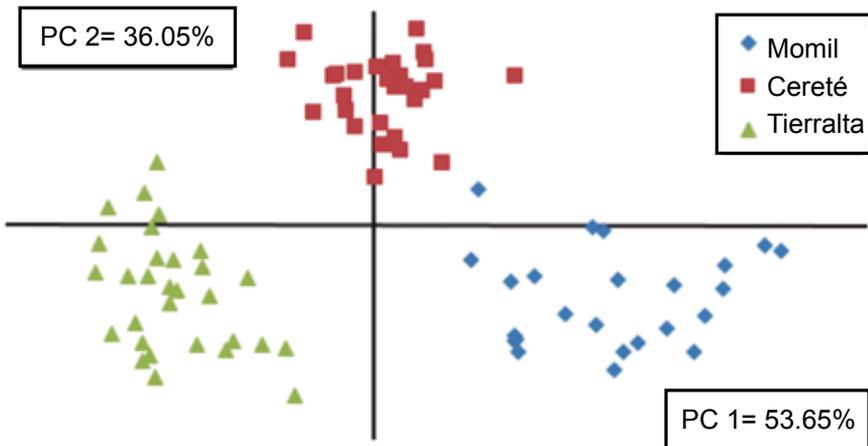


FIGURA 2. Resumen de las posiciones individuales de acuerdo al primer y segundo eje de dispersión en un análisis de componentes principales (ACoP) basado en la matriz de correlación de las frecuencias alélicas de los 20 marcadores moleculares.

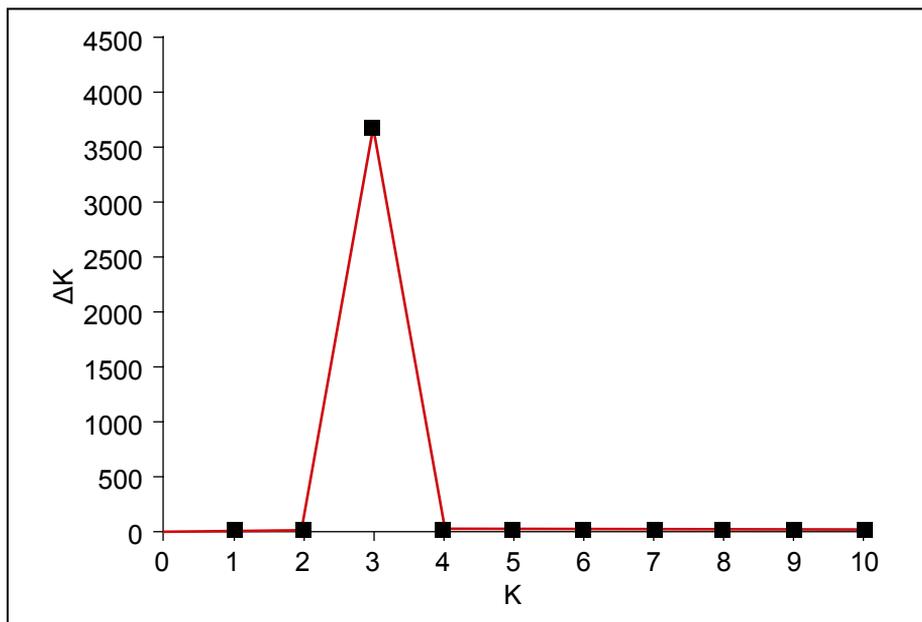


FIGURA 3. Valores de ΔK como función de K. El pico con el valor máximo de ΔK corresponde al valor de K con mayor probabilidad (en este caso K= 3).

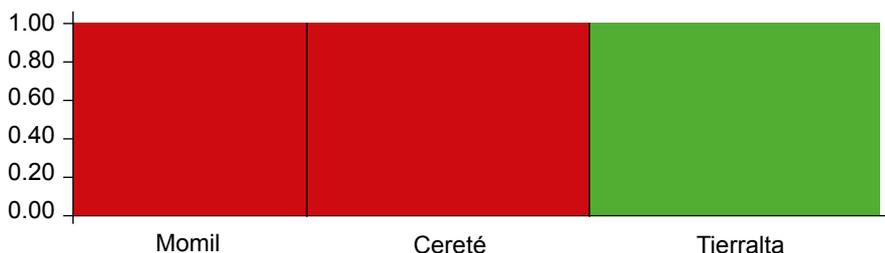


FIGURA 4. Gráfico de STRUCTURE para las agrupaciones K=3 de los 163 ejemplares muestreados. Cada barra vertical de color representa un individuo y las líneas negras son separaciones entre las poblaciones.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio indican que los marcadores elegidos fueron confiables e informativos porque el número de alelos supero los valores sugeridos por Nassiri *et al.* (2009) con más de cuatro alelos por locus. Además, se ha determinado que los marcadores microsatélites empleados para

obtener una estimación confiable de las distancias genéticas, deben tener al menos 5 alelos por locus para reducir los errores estándar de estos parámetros de estimación (Barker 1994); en consecuencia, las distancias genéticas aquí estimadas fueron precisas. La heterocigosidad promedio observada para todos los loci fue mayor a 0,50 lo cual

indicó que los marcadores microsátélites fueron adecuados para el análisis de la diversidad genética en las poblaciones de cerdo doméstico en Córdoba (Colombia).

Los resultados mostraron un alto grado de polimorfismo para las poblaciones estudiadas, evidenciado en el promedio de alelos por locus, con un total de 207 alelos y un número promedio de alelos de $10,3 \pm 0,93$. Otros estudios de diversidad genética en cerdos reportan valores mayores de entre 13,31 y 24,8 alelos (Gama *et al.* 2013; Li *et al.* 2004) valores a su vez superiores a los reportados por Chang *et al.* (2009) quienes encontraron entre 2,0 y 3,9 alelos. En el presente estudio la heterocigosidad media esperada fue de 0,603 y la observada de 0,583 lo que indica un alto grado de variabilidad, ya que esto se considera cuando los valores superan el 0,50. Este valor es similar a los encontrados en estudios previos llevados a cabo en cerdos criollos de Uruguay, con una H_e de 0,653 en cerdos Pampa Rocha (Montenegro *et al.* 2015), y de 0,590 en cerdos Mamellados (Castro 2007). La heterocigosidad hallada en el presente análisis también se asemeja a las cifras encontradas en el Criollo Cubano ($H_e = 0,653$), el Pelón Mexicano ($H_e = 0,635$) y los criollos argentinos ($H_e = 0,682$) (Canul *et al.* 2005; Pérez Pineda 2005; Revidatti 2009). En las razas Monteiro, Moura y Piau de Brasil se reportaron H_e de 0,573; 0,569 y 0,661 respectivamente (Sollero *et al.* 2008). En cerdos ibéricos las H_e oscilan entre 0,439 para el Manchado de Jabugo y 0,567 para el Entrepelado (Martínez 2001). En el Negro Canario se reportó una H_e de 0,475 (Martínez *et al.* 2007). En razas porcinas europeas este valor varía entre 0,43 y 0,68 (Vicente *et al.* 2008). La heterocigosidad, refleja el polimorfismo detectado para cada mar-

cadore en las poblaciones estudiadas y su valor también depende del número de alelos y de sus frecuencias. A partir de los datos obtenidos del número de alelos, y la heterocigosidad, puede concluirse que la variabilidad de los cerdos de Córdoba es elevada, y que el panel de microsátélites, el cual ya ha sido probado en numerosas estudios, ha sido apropiado para estudiar la variabilidad genética en este recurso zoogenético. Los valores obtenidos para el coeficiente F_{IS} en Córdoba de -0,1557 a 0,5634 son mayores a los encontrados en los criollos del NE argentino entre -0,025 y 0,302 y menores al valor máximo del cerdo Ibérico entre -0,0818 y 0,6208. En el Criollo Cubano los valores fueron entre 0,026 y 0,045 (Martínez 2001; Pérez-Pineda 2005; Revidatti 2009), mientras que en razas porcinas europeas se han reportado valores de entre 0,005 y 0,023 (SanCristóbal *et al.* 2006). En las razas Monteiro, Moura y Piau de Brasil, estos valores fueron de 0,097; -0,055 y 0,126 respectivamente (Sollero *et al.* 2008). El F_{IS} es un parámetro que estima la variabilidad dentro de una población y es una medida de la reducción en la heterocigosidad debida a los apareamientos no aleatorios en la población, indicando así el nivel de endogamia. Algunos de los factores que pueden contribuir a una menor heterocigosidad de la esperada, son la consanguinidad expresada a través de la reproducción de individuos emparentados (Addison y Hart 2005), la subdivisión de la población (Efecto Wahlund), la presencia de alelos nulos o la falta de neutralidad relativa a la selección, con selección a favor de los homocigotos (Revidatti 2009). En el caso de los cerdos cordobeses, población en la cual no se aplican planes de apareamiento, no se puede descartar la selección artificial; es posible que se esté presentando selección

artificial al realizar una selección directa de organismos reproductores al escoger los fenotipos mejor adaptados. El nivel de endogamia es bajo, pero igualmente se observa exceso de homocigotos. El estadístico F_{IT} ($0,13 \pm 0,08$) mostró un déficit de genotipos heterocigotos al considerar el pool génico de las tres poblaciones (Momil, Cereté y Tierralta), por lo que se podría señalar cierta estructuración poblacional. El estadístico F_{ST} total ($0,12 \pm 0,08$) calculado para todos los loci y para todas las poblaciones de cerdos indica un grado moderado de subdivisión poblacional. Según este parámetro el 88% de la varianza en las frecuencias alélicas se expresa dentro de cada población y solo el 12% de la varianza se atribuye a diferencias entre las poblaciones. Este valor aumenta cuando las frecuencias alélicas divergen, pero es difícil cuantificar la significación de la divergencia (Weir 1996). En estudios realizados en variedades del cerdo ibérico, se obtuvo un θ (análogo F_{ST}) del 13%, mientras que el valor medio encontrado en razas porcinas europeas fue de 27% (Laval *et al.* 2000) y en razas chinas de 18% (Fan *et al.* 2002). Entre razas criollas de una misma región, se han reportado valores menores de diferenciación genética, tales como los Criollos del NEA de la Zona Seca y los de la Zona Húmeda (F_{ST} 4,4%), y entre los Criollos Cubanos (F_{ST} 0,12%) (Pérez-Pineda 2005; Revidatti 2009). En comparación con estos valores, los cerdos Pampa Rocha muestran una mayor diferenciación con las razas de referencia incluidas en este estudio, pero teniendo en cuenta que no se han incluido otras poblaciones criollas.

Del total de microsatélites analizados en cada población, el 80% se encontraron en equilibrio genético de Hardy-Weinberg, el alto porcentaje de loci en equilibrio

supone que las frecuencias alélicas de los individuos analizados se agrupan conformando poblaciones homogéneas (Tabla 3). En un principio esto podría mostrar recientemente que han llegado nuevos individuos a cada población, provenientes de otras poblaciones con el mismo acervo genético con respecto a los individuos de la población analizada, o que, los apareamientos dentro de cada población se produjeron de forma aleatoria (en lo referente a los marcadores considerados). Cuatro loci de cada población mostraron una desviación significativa con respecto al equilibrio H-W, revelando un exceso de homocigotos. El exceso de homocigotos en una población podría ser el resultado de eventos de endogamia dentro de la misma (Allendorf y Luikart 2007). Sin embargo, la endogamia afecta por igual a todo el genoma por lo que se esperaría que si este fenómeno fuera el más trascendente, todos los marcadores empleados deberían mostrar un exceso de homocigotos, cosa que no ocurre en este caso. Asimismo, pudiera presentarse la existencia de Efecto Wahlund, (una posible estructura genética por subdivisión); de ser así, eso significaría que existen diferencias marcadas entre las poblaciones cercanas de cerdo doméstico para los marcadores en desequilibrio de Hardy-Weinberg, pero no para los otros marcadores. Si esas diferencias para estos marcadores no se han eliminado es porque el flujo génico existente entre poblaciones cercanas es limitado (aspecto que no muestran los otros marcadores), o porque dichos microsatélites, están ligados a genes sometidos a selección natural que actúan diferencialmente a nivel micro o macroespacial. Otra posibilidad es la presencia de alelos nulos en dichos loci (Chapuis y Estoup 2007), evento descartable en este estudio por no encontrarse, o por efecto

fundador (llegaron pocos padrotes que se multiplicaron mucho) o en el caso de poblaciones cerradas por el alto grado de consanguinidad.

Los diferentes valores obtenidos para cuantificar la variabilidad genética, tales como el alto porcentaje de loci polimórficos, heterocigosidad esperada y observada, señalan una elevada variabilidad genética en las poblaciones de cerdos de Córdoba muestreadas. Es probable que el exceso de homocigotos sea el resultado de la selección artificial practicada en el manejo reproductivo. La selección en estos animales consiste en la utilización de uno o dos machos reproductores, seleccionados por tamaño y el castrado del resto.

Así pues, el análisis de la estructura genética de las poblaciones analizadas sugiere la existencia de tres poblaciones genéticamente distintas. El análisis Neighbor-Joining mostró a las poblaciones de Momil y Cereté muy cercanas y a estas se une la población de Tierralta; hay que tener en cuenta que Momil y Cereté son las más cercanas geográficamente y entre ellas debe darse movimiento de migrantes, aunque cada una de ellas mantiene su perfil genético. Los altos valores de bootstrap en el análisis Neighbor-Joining indicaron que los 20 marcadores microsatélites utilizados en el estudio fueron adecuados para el análisis de relación genética y para entender que la clasificación observada en el dendrograma está bien apoyada y podría representar unidades evolutivas distintas.

En cuanto a el análisis de componentes principales (ACoP) (Figura 2), se realizó aplicando los resultados de la genotipificación de 20 microsatélites a las tres poblaciones de cerdo doméstico (161 ejemplares). El resultado de este análisis proporciona una representación espacial interesante e instructiva de las relaciones

entre las tres poblaciones de cerdo doméstico y refuerza lo encontrado en las distancias genéticas. Los resultados de la ACoP mostraron la relación más cercana entre Momil y Cereté y de estas a su vez con Tierralta.

El análisis Structure definió el grado de mezcla de cada ejemplar. En este estudio, el análisis bayesiano proporcionó otro método para agrupar las poblaciones de cerdo doméstico sin información previa sobre las poblaciones y para investigar los individuos dentro de las poblaciones. El análisis de la estructura de la población detectó tres grupos homogéneos ($K = 3$). Los resultados actuales confirman de nuevo la existencia de tres poblaciones, donde se observa la cercanía de Momil y Cereté y de estas con Tierralta.

CONCLUSIONES

Los valores obtenidos para cuantificar la diversidad genética, tales como el alto porcentaje de loci polimórficos, heterocigosidad esperada y observada, señalan una elevada variabilidad genética en las poblaciones de cerdos de Córdoba muestreadas. Los estadísticos F de Wright, mostraron déficit de heterocigotos, es probable que el exceso de homocigotos sea el resultado de la selección artificial. Los análisis de estructura poblacional como: el diagrama Neighbor-Joining, el análisis de componentes principales (ACoP) y el análisis Structure sugieren la existencia de tres poblaciones genéticamente distintas, mostrando la cercanía genética entre las poblaciones de Momil y Cereté a las que se une Tierralta, lo cual muestra cómo se da el movimiento de los migrantes entre esas tres poblaciones cordobesas, pero manteniendo cada una su identidad genética.

REFERENCIAS

- Addison JA, Hart MW. 2005. Spawning, copulation and inbreeding coefficients in marine invertebrates. *Biol. Lett.* 1(4): 450-453. Doi: 10.1098/rsbl.2005.0353.
- Allendorf FW, Luikart GH. 2007. Conservation and the genetics of populations. Massachusetts: Blackwell. 626 p.
- Barker JSF. 1994. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. En: *Memorias 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production; 7-12 August 1994; Guelph (ON): University of Guelph.* Vol. 21, p. 501-508.
- Belkhir KP, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F. 1999. GENETIX 4.02, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Cabeza MA. 1977. Estudio comparativo de la raza nativa de cerdo Zungo con razas mejoradas [tesis de maestría]. [Bogotá (CO)]: Universidad Nacional de Colombia.
- Canul SM, Sierra VA, Martínez MA, Ortiz OJ, Delgado JV, Vega-Pla JL, Pérez GF. 2005. Caracterización genética del cerdo pelón mexicano mediante marcadores moleculares. *Arch. Zootec.* 54: 267-272.
- Castro G. 2007. Situación de los recursos genéticos porcinos locales en Uruguay. *Arch. Zootec.* 56(Supl. 1): 783-788.
- Chang WH, Chu HP, Jiang YN, Li SH, Wang Y, Chen CH, Chen KJ, Lin CY, Ju YT. 2009. Genetic variation and phylogenetics of Lanyu and exotic pig breeds in Taiwan analyzed by nineteen microsatellite markers. *J. Anim. Sci.* 87(1):1-8. Doi: 10.2527/jas.2007-0562.
- Chapuis MP, Estoup A. 2007. Microsatellite null Alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.* 24(3): 621-631. Doi: 10.1093/molbev/msl191.
- Evanno G, Regnault S, Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611-2620. Doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x.
- Fan B, Wang ZG, Li YJ, Zhao XL, Liu B, Zhao SH, Yu M, Li MH, Chen SL, Xiong TA, Li K. 2002. Genetic variation analysis within and among Chinese indigenous swine populations using microsatellite markers. *Anim. Genet.* 33(6): 422-427.
- Gama LT, Martínez AM, Carolino I, Landi V, Delgado JV, Vicente AA, Vega-Pla JL, Cortés O, Sousa CO. 2013. Genetic structure, relationships and admixture with wild relatives in native pig breeds from Iberia and its islands. *Gen. Sel. Evol.* 45:18-32. Doi: 10.1186/1297-9686-45-18.
- Huff DR, Peakall R, Smouse PE. 1993. RAPD variation within and among natural populations of out crossing buffalo grass (*Buchloë dactyloides* [Nutt.] Engelm.). *Theor. Appl. Genet.* 86(8): 927-934.
- [ICA] Instituto Colombiano Agropecuario. 2015. Censo pecuario nacional Colombia [Internet]. Bogotá (CO): ICA; [Citado: 28 mar. 2014]. Disponible en: <http://www.ica.gov.co/getdoc/8232c0e5-be97-42bd-b07b-9cdbfb07fcac/Censos-2012.aspx>.
- Laval G, Iannuccelli N, Legault C. *et al.* 2000. Genetic diversity of eleven European pig breeds. *Genetics Selection Evolution.* 32: 187-203. Doi: 10.1186/1297-9686-32-2-187.
- Li SJ, Yang SL, Zhao SH, Fan B, Yu M, Wang HS, Li MH, Liu B, Xiong TA, Li K. 2004. Genetic diversity analyses of 10 indigenous Chinese pig populations based on 20 microsatellites. *J. Anim. Sci.* 82(2): 368-74.
- Martínez A. 2001. Caracterización genética del cerdo Ibérico mediante marcadores moleculares [tesis de doctorado]. [Córdoba (ES)]: Universidad de Córdoba.
- Martínez AM, Quiroz J, Marques JR, Delgado JV. 2007. Estudio de la diversidad genética del cerdo Negro Canario con microsatélites de ADN. *Arch. Zootec.* 56(Supl. 1): 425-428.
- Montenegro M, Llambí S, Castro G, Barlocco N, Vadell A, Landi V, Delgado JV, Martínez A. 2015. Genetic characterization of Uruguayan Pampa Rocha pigs with microsatellite markers. *Genet. Mol. Biol.* 38(1): 48-54. Doi: 10.1590/S1415-475738120140146.
- Mullis K, Faloona F. 1987. Specific synthesis of DNA in Vitro via a polymerase catalyzed chain

- reaction. *Method. Enzymol.* 155: 335-350. Doi: 10.1016/0076-6879(87)55023-6.
- Nassiry MR, Javanmard A, Tohidi R. 2009. Application of statistical procedures for analysis of genetic diversity in domestic animal populations. *Am. J. of Anim. Vet. Sci.* 4(4): 136-141. Doi: 10.3844/ajavsp.2009.136.141.
- Nei M, Tajima F, Tateno Y. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J. Mol. Evol.* 19(2): 153-170.
- Oslinger G. 2003. Caracterización Molecular de Cerdos Criollos Colombianos mediante la técnica molecular RAMs (Random Amplified Microsatellites) [tesis de pregrado]. [Palmira (CO)]: Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira.
- Pardo E, Cavadía T, Meléndez I. 2014. Microsatellite characterization of the Momil, Cordoba (Colombia) domestic pig. *Arch. Zootec.* 63(241): 215-218.
- Patiño VM. 1970. Plantas cultivadas y animales domésticos en América equinoccial. Tomo IV: plantas introducidas. Cali (CO): Imprenta Departamental. p. 295-317.
- Peakall R, Smouse PE. 2006. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6: 288-295.
- Pérez-Pineda E. 2005. Caracterización genética del cerdo Criollo Cubano utilizando marcadores moleculares [tesis de doctorado]. [Bayamo (CU)]: Universidad de Granma.
- Pritchard JK, Pickrell JK, Coop G. 2010. The genetics of human adaptation: hard sweeps, soft sweeps, and polygenic adaptation. *Curr. Biol.* 20(4): R208-R215. Doi: 10.1016/j.cub.2009.11.055.
- Raymond M, Rousset F. 1995. GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact test and ecumenicism. *J. Hered.* 86(3): 248-249.
- Revidatti MA. 2009. Caracterización de cerdos criollos del Nordeste Argentino [tesis de doctorado]. [Córdoba (ES)]: Universidad de Córdoba.
- Sambrook J, Russell DW. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Vol. 1. (3rd ed.). New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SanCristobal M, Chevalet C, Peleman J, Heuven H, Brugmans B, van Schriek M, Joosten R, Rattink AP, Harlizius B, Groenen MA, *et al.* 2006. Genetic diversity in European pigs utilizing amplified fragment length polymorphism markers. *Animal Genetics.* 37(3): 232-238.
- Sollero BP, Paiva SR, Faria DD, Guimaraes SEF, Castro STR, Egito AA, Albuquerque MSM, Piovezan U, Bertani GR, Mariante A. 2008. Genetic diversity of Brazilian pig breeds evidenced by microsatellite markers. *Livest. Sci.* 123(1): 8-15. Doi: 10.1016/j.livsci.2008.09.025.
- Sun HS, Barendse W, Kispatrik BM. 1995. Rapid communication: UWCA46, a polymorphic bovine microsatellite marker. *J. Anim. Sci.* 73(5): 1530.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24(8): 1596-1599.
- Vicente AA, Carolino M, Sousa MC, Ginja C, Silva FS, Martínez AM, Vega-Pla JL, Carolino N, Gama LT. 2008. Genetic diversity in native and commercial breeds of pigs in Portugal assessed by microsatellites. *J. Anim. Sci.* 86: 2496-2507. Doi: 10.2527/jas.2007-0691.
- Weir BS. 1996. *Genetic Data Analysis II: Methods for Discrete Population Genetic Data*. Sunderland (MA): Sinauer Associates, Inc.

Article citation:

Pardo E, Maya H, Alvarino G. 2015. Estudio de la diversidad genética del cerdo doméstico en el departamento de Córdoba (Colombia) utilizando marcadores microsatélites [Study of genetic diversity of the domestic pig in the department of Córdoba (Colombia) using microsatellite markers]. *Rev Med Vet Zoot.* 62(3): 34-48.
Doi: <http://dx.doi.org/10.15446/rfmvz.v62n3.54939>.