

Variabilidad genética de seis poblaciones del cerdo Criollo venezolano usando marcadores microsatélites

Rafael Galíndez^{1*}, Catalina Ramis², Gonzalo Martínez¹, Luis Ángulo², Ángela Bedoya³ e Yreny de Farías²

¹Instituto de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay 2101, Aragua. Venezuela

²Instituto de Genética, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo 4579. Maracay 2101, Aragua. Venezuela

³Instituto Universitario Pedagógico Libertador. Maracay 2101, Aragua. Venezuela

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue caracterizar la variabilidad genética del cerdo Criollo venezolano presente en los estados Apure, Barinas y Guárico, Venezuela, utilizando 13 marcadores microsatélites. Se tomaron muestras de ADN genómico de folículos pilosos de 171 individuos en seis localidades venezolanas: Masaguaral (22), El Socorro (26) y Guayabal (31) en el estado Guarico; Arismendi (31) en el estado Barinas; Capanaparo (29) y Cunaviche (32) en el estado Apure. Se amplificaron 13 marcadores microsatélites por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y se tipificaron los fragmentos mediante tinción con nitrato de plata. Se calcularon el número medio de alelos (NMA), frecuencias alélicas (FA), heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He) y equilibrio Hardy – Weinberg (HW). NMA estuvo en el intervalo de 3,38 (Guayabal) a 4,15 (Masaguaral). Todos los loci resultaron polimórficos. Se detectó el alelo 240 (S0227) privado en Arismendi. Ho osciló entre 0,500 y 0,567; mientras que He entre 0,551 y 0,609. Dentro de las poblaciones los marcadores en desequilibrio variaron de 2 (Masaguaral y Guayabal) a 5 (El Socorro). Se concluye que existe variabilidad genética en los cerdos Criollos venezolanos lo que justifica aplicar planes de conservación, multiplicación y mejora genética.

Palabras clave: alelos, heterocigosis, equilibrio Hardy - Weinberg.

Genetic variability of six Venezuelan Creole pig populations using microsatellites markers

ABSTRACT

The objective of the research was to characterize the genetic variability of Venezuelan Creole pigs of Apure, Barinas, and Guárico states, Venezuela, using 13 microsatellite markers. Genomic DNA samples from hair follicles of 171 individuals were sampled in six Venezuelan localities: Masaguaral (22), El Socorro (26) and Guayabal (26) in Guarico state; Arismendi (31) in Barinas state; Capanaparo (29) and Cunaviche (32) in Apure state. Thirteen microsatellites markers were amplified by polymerase chain reaction (PCR) technique and typified the fragments by staining with silver nitrate. There were calculated the mean allele number (MAN), allelic frequencies (AF), average

*Autor de correspondencia: Rafael Galíndez

E-mail: galindez70@yahoo.com

observed (Ho) and expected (He) heterocigosity, and Hardy – Weinberg (HW) equilibrium. MAN ranged from 3.38 (Guayabal) to 4.15 (Masaguaral). All loci were polymorphic. It was detected the allele 240 (S0227) private in Arismendi. Ho ranged from 0,500 to 0,567; while He from 0,551 to 0,609. Within populations, the markers in disequilibrium range from 2 (Masaguaral and Guayabal) to 5 (El Socorro). It is concluded that there is genetic variability in Venezuelan Creole pigs that justifies applying conservation, multiplication, and genetic improvement plans.

Key words: alleles, heterocigosity, Hardy – Weinberg equilibrium.

INTRODUCCIÓN

Desde hace años existe en el mundo un creciente interés por la preservación y conservación de los recursos genéticos autóctonos y criollos. Es así como la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) ha impulsado un programa mundial para la conservación de la biodiversidad en el planeta. En México (Canul *et al.*, 2005; Lemus *et al.*, 2001), Cuba (Pérez *et al.* 2004), Argentina (Revidatti, 2009), Uruguay (Montenegro, 2012) y Ecuador (Vargas *et al.*, 2015) se han realizado estudios de sus cerdos Criollos. Dicho interés se debe a la pérdida de biodiversidad en el área de la producción animal, debido a las técnicas modernas de genética poblacional aplicadas en forma masiva y errada en los rebaños de animales domésticos (FAO, 1998).

Los cerdos Criollos venezolanos han sido estudiados considerando algunos aspectos morfológicos, zoométricos, descripción de rasgos productivos particulares (peso adulto, tamaño de camada) y análisis preliminar de algunos fragmentos de ADN generados con marcadores moleculares del tipo RAPD (Galíndez *et al.*, 2011; Hurtado *et al.*, 2005, 2006; Hurtado, 2004). Sin embargo, hasta ahora no se ha cubierto una premisa señalada por la FAO (2004): la planificación, conservación y mejora de los grupos genéticos Criollos y autóctonos debe incluir el estudio genético molecular (marcadores microsatélites) de estas poblaciones, para separar los grupos y poder identificar sus orígenes. Dicha aseveración parte del hecho de que las características del material genético presente en una unidad productiva, representan el insumo principal para realizar los ajustes necesarios en dichas unidades y así poder incrementar y/o mantener la producción sin poner en peligro la sostenibilidad del sistema, donde la permanencia en el tiempo de los animales de interés zootécnico con niveles productivos adecuados representa la piedra angular en estas unidades de explotación.

En referencia a la diversidad genética de poblaciones de cerdos Criollos y salvajes, en la literatura se ha reportado un número de alelos que oscila entre 1 y

24 para los marcadores microsatélites recomendados por la FAO (2004), obedeciendo las diferencias entre una y otra investigación a la utilización de grupos genéticos distintos (Revidatti *et al.*, 2014; Montenegro, 2012; Landi *et al.*, 2011; Revidatti, 2009; Chang *et al.*, 2009). Asimismo, las frecuencias alélicas dependen, en gran manera, de la composición genética de cada población particular, lo cual a su vez está relacionada con los procesos que las modifican (selección, migración, mutación, deriva). En este sentido, es usual encontrar reportes con frecuencias alélicas en el orden de 0,006 hasta frecuencias alélicas muy altas, inclusive igual a 1, cuando se encuentran loci monomórficos (Thuy *et al.*, 2006; Calvo *et al.*, 2000). El número de alelos está relacionado con la heterocigosis, para lo cual se han reportado valores cercanos a 0,5 para cerdos de la península ibérica (Martínez *et al.*, 2004), por ejemplo. El objetivo de la presente investigación fue determinar la variabilidad genética de seis poblaciones del cerdo Criollo venezolano usando marcadores microsatélites.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron las poblaciones de cerdos Criollos venezolanos presentes en las zonas de Capanaparo (Municipio Achaguas, n = 29) y Cunaviche (Municipio Pedro Camejo, n = 32) del estado Apure; Guadarrama (Municipio Arismendi, n = 31) del estado Barinas; así como El Socorro (Municipio Camaguán, n = 26), Hato Masaguaral (Municipio Francisco de Miranda, n = 22) y Guayabal (Municipio San Gerónimo de Guayabal, n = 31) del estado Guárico.

Se tomaron muestras de folículos pilosos que incluyeron las tres variedades (negro, rojo y manchado) descritas anteriormente por Hurtado (2004) y Hurtado *et al.* (2005; 2006). Los análisis moleculares se realizaron en el Laboratorio de Genética Molecular del Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola en el Instituto de Genética de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, ubicado en la ciudad de Maracay, estado Aragua, Venezuela.

Se usó un protocolo de extracción de ADN

genómico a partir de folículos pilosos que se basó en la aplicación de nitrógeno líquido y acetato de sodio (Galíndez *et al.*, 2011). Se utilizaron 13 marcadores microsatélites recomendados por la FAO (2004) para estudios de diversidad genética: S0005, S0155, S0215, S0218, S0225, S0227, SW24, SW240, SW632, SW857, SW911, SW936, SW951. La amplificación de los fragmentos por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se llevó a cabo en un equipo termociclador marca Biorad, modelo PTC-100, utilizando el siguiente programa: 1) Desnaturalización inicial a 95°C por 4 min, seguida de 40 ciclos de amplificación: 95°C por 30 seg, temperatura de alineación por 1 min (dependiendo del cebador), extensión a 72°C por 2 min, con un ciclo de extensión final a 72°C por 10 min. La mezcla de reacción (Mix) usada para la PCR incluyó albúmina de suero bovino (BSA)/1 mg.mL⁻¹/0,5 μL; buffer/5X/5 μL; MgCl₂/25mM/2,5 μL; TAQ Polimerasa/5U.μL⁻¹/0,2 μL; dNTP'S/200 μM/0,2 μL; ADN/10ng. μL⁻¹/5 μL; cebadores/10 μM/2 μL; agua 9,6 μL para un volumen final de reacción de 25μL.

Para separar los fragmentos producto de la PCR, se realizó electroforesis vertical en geles de poliacrilamida (6%) y revelado con nitrato de plata según la metodología descrita por Badan (2003). La tipificación de los productos de PCR se realizó con el apoyo de un transiluminador de luz blanca y el tamaño de los fragmentos se calculó usando la metodología propuesta por Hames y Rickwood (1981), a partir de un marcador de 25 pb y con el apoyo del programa Microsoft Excel.

Una vez culminado el análisis molecular se procedió a los análisis estadísticos. Se calculó el número de alelos, frecuencias alélicas, contenido de información polimórfica y las heterocigosis usando el complemento para Microsoft Excel "The Excel Microsatellite Toolkit" (Revidatti, 2009). Asimismo, se calculó el equilibrio Hardy – Weinberg, para lo cual se realizó una prueba de X² sobre una simulación de distribución de la población, con el apoyo del algoritmo en Cadena de Markov; utilizando el programa computacional GENEPOP V4.0 (Raymond y Rousset, 1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Número de alelos por locus

El número de alelos por locus varió desde dos alelos para el marcador microsatélite S0215 hasta seis alelos para los marcadores S0218, S0225 y SW911

(Cuadro 1). De manera general se ha establecido que para reducir los errores de estimación y aumentar, por consiguiente la precisión, cada locus debería presentar al menos cuatro alelos (Barker, 1994). En este orden de ideas, en la presente investigación se apreciaron los marcadores microsatélites S0215 y SW951 con menos de cuatro alelos, asimismo, otros marcadores moleculares poseen un número de alelos inferior al límite establecido por Barker (1994) para algunas poblaciones (Cuadro 1). Por ello, es probable que para estas poblaciones particulares y en las condiciones de laboratorio en las cuales fueron amplificados, su utilidad para el estudio de diversidad genética sea limitada.

Por otra parte, según Landi *et al.* (2011), el número medio de alelos expresa riqueza alélica o diversidad genética, por ello, a mayor número mayor diversidad. En el caso de los cerdos Criollos venezolanos, la riqueza alélica y/o diversidad expresada en el número medio de alelos se ubicó en valores cercanos a 4 (Cuadro 1), resultado que es comparable a los reportes de la literatura en cerdos Criollos latinoamericanos y salvaje europeo (Montenegro, 2012; Landi *et al.*, 2011; Revidatti, 2009; Pérez *et al.*, 2004; Lemus *et al.*, 2001).

Para tres grupos de cerdos (Guayabal 3,38; Capanaparo 3,92 y Cunaviche 3,85) hay una menor variabilidad (respecto a los otros grupos analizados); sin embargo, dicha variabilidad es superior a la de algunas poblaciones de cerdos cerradas como Chato Murciano, Negro Canario y cerdo taiwanés (Chang *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2007; Calvo *et al.*, 2000), pero los valores fueron un poco inferiores a los reportados para los cerdos ibéricos (Martínez *et al.*, 2005; 2000a,b) y africanos (Ayizanga *et al.*, 2016).

Se debe resaltar que las metodologías empleadas en este trabajo y algunos reportes de la literatura son diferentes. En esta investigación se usó la tinción con nitrato de plata y el genotipado con transiluminador de luz blanca, mientras que en otros trabajos consultados usaron microsatélites marcados con fluorocromos y secuenciadores automáticos, por lo que era de esperar algunas diferencias propias de las metodologías. En total se detectaron entre 45 (Guayabal) y 55 (Masaguaral) alelos con los 13 marcadores microsatélites, resultado que se asemeja a los reportes de Chang *et al.* (2009) y Lemus *et al.* (2001). La menor riqueza alélica observada en Guayabal puede ser debida a un muestreo de poblaciones pequeñas y que generalmente son cerradas; por el contrario, procesos continuos de intercambio de genes (migración) pueden

Cuadro 1. Número de alelos medio por locus (microsatélites) y total de alelos en seis poblaciones de cerdos Criollos venezolanos usando 13 marcadores microsatélites.

Locus	Población ¹					
	Ma	ES	Ar	Gu	Ca	Cu
S0005	4	4	4	4	4	3
S0155	5	4	4	3	3	5
S0215	2	2	2	2	2	2
S0218	6	6	4	4	5	4
S0225	6	5	4	4	5	5
S0227	3	3	5	3	4	3
SW24	4	5	5	3	5	4
SW240	4	4	4	5	3	3
SW632	4	4	4	4	3	4
SW857	4	4	4	2	4	4
SW911	5	5	5	4	6	6
SW936	4	4	4	3	4	4
SW951	3	3	3	3	3	3
Media	4,15	4,08	4,00	3,38	3,92	3,85
Total	55	54	53	45	52	51

¹Ma: Masaguaral, ES: El Socoro, Ar: Arismendi, Gu: Guadarrama, Ca: Capanaparo, Cu: Cunaviche.

estar ocurriendo en Masaguaral, principalmente por la práctica de cruzamiento con razas especializadas (Galíndez *et al.*, 2011; Hurtado, 2004). La diversidad genética de los cerdos Criollos venezolanos detectada en este estudio es acorde a la variabilidad de las medidas zoométricas reportada por Hurtado *et al.* (2005) en los cerdos Criollos de dos municipios del estado Apure.

Frecuencias alélicas

La frecuencia alélica es una medida del polimorfismo que pueda presentar un locus. Cuando el alelo más común posee una frecuencia inferior a 95% se acepta que este locus es polimórfico (Aranguren – Méndez, 2002). Según la definición anterior todos los loci resultaron polimórficos, lo que concuerda con los reportes de Canul *et al.* (2005) y Calvo *et al.* (2000). Otro aspecto importante de analizar, es que se evidenció que el alelo más frecuente no siempre es el mismo para todas las poblaciones en todos los loci analizados, por lo que pueden considerarse informativos para realizar estudios entre poblaciones del cerdo Criollo venezolano (Cuadro 2).

Se detectó que el alelo 240 del microsatélite S0227 es exclusivo en la población de Arismendi. La presencia

de fragmentos exclusivos o privados en poblaciones ha sido reportada con anterioridad por Galíndez *et al.* (2011) en un estudio de cerdos Criollos venezolanos usando RAPD; asimismo, Thuy *et al.* (2006) encontró alelos privados para todos los microsatélites considerados en el cerdo vietnamita. Estos alelos son considerados raros debido a que su frecuencia es inferior a 5% (Thuy *et al.*, 2006; Aranguren – Méndez *et al.*, 2002), por lo cual estos marcadores moleculares pueden ser muy útiles para el estudio de divergencia genética entre poblaciones de cerdos. Sin embargo, es necesario evaluar individuos de otras poblaciones para descartar las imprecisiones que pudieran acarrear el muestreo de individuos emparentados en una misma zona. En todo caso, es sabido que en poblaciones aisladas la deriva genética puede ser causal de la variación observada (Galíndez *et al.*, 2011). Asimismo, se evidencia en el Cuadro 2 que el alelo 151 del marcador SW911 se encuentra solo en las poblaciones del estado Apure. Otro indicio de variabilidad es el hecho de que en algunas poblaciones no se detectaron los alelos observados en otras, tal es el caso del alelo 219 (S0227) que está ausente en El Socorro, Guayabal y Cunaviche o el alelo 178 (SW911) no presente en Guayabal.

Los resultados reflejan que los cerdos Criollos

Cuadro 2. Frecuencias alélicas (%) para dos marcadores microsatélites en seis poblaciones de cerdos Criollos venezolanos.

Marcador	Población ¹						
	Alelo	Ma	ES	Ar	Gu	Ca	Cu
S0227	219	7,14	0,00	8,93	0,00	5,56	0,00
	223	33,33	19,23	28,57	4,35	5,56	28,85
	230	59,52	61,54	58,93	80,43	75,93	59,62
	240	0,00	0,00	1,79	0,00	0,00	0,00
	247	0,00	19,23	1,79	15,22	12,96	11,54
SW911	151	0,00	0,00	0,00	0,00	3,70	4,84
	156	4,76	26,00	12,07	22,58	22,22	3,23
	163	19,05	6,00	20,69	41,94	14,81	20,97
	170	30,95	20,00	18,97	20,97	11,11	19,35
	174	26,19	44,00	44,83	14,52	46,30	45,16
	178	19,05	4,00	3,45	0,00	1,85	6,45

¹ Representación parcial de los resultados. Ma: Masaguaral, ES: El Socoro, Ar: Arismendi, Gu: Guadarrama, Ca: Capanaparo, Cu: Cunaviche.

venezolanos representan un importante reservorio de variabilidad genética, denotada para este caso en la frecuencias alélicas (Landi *et al.*, 2011). Tal variabilidad de los cerdos Criollos venezolanos ha sido reportada en caracteres e índices zoométricos, así como en la morfometría de órganos vitales en los estudios realizados por Hurtado *et al.* (2005, 2006) y Hurtado (2004), por tanto, los resultados obtenidos corroboran la variabilidad detectada por los autores mencionados, los cuales la atribuyen a la adaptación a las distintas condiciones medioambientales de estos cerdos. Es importante recalcar que la riqueza genética detectada es el insumo básico para poder planificar los planes de reproducción que se aplicarán para la conservación y mejora genética, considerando las bondades del cerdo Criollo venezolano.

Heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He)

Los menores valores de heterocigosidad se observaron para el marcador S0215, mientras que los mayores valores fueron para el marcador SW911 (Cuadro 3). Al igual que en la presente investigación, Martínez *et al.* (2000a) en un estudio genético del cerdo Ibérico, reportaron valores bajos de heterocigosidad (0,148) para el microsatélite S0215.

Las heterocigosidades observadas son ligeramente inferiores a los reportados por Revidatti (2009), Pérez *et al.* (2004), Lemus *et al.* (2001), Canul *et al.* (2005) y Li *et al.* (2004). Asimismo, son similares a otros reportes de la literatura (Ayizanga *et*

al., 2016; Revidatti *et al.*, 2014; Montenegro, 2012; Vicente *et al.*, 2008; Martínez *et al.*, 2007, 2003).

Se evidenciaron en todas las poblaciones de cerdos Criollos venezolanos niveles de heterocigosidad observada y esperada superiores a 0,5, lo cual ha sido descrito por Kim *et al.* (2005), Li *et al.* (2004) y Pérez *et al.* (2004) como muestra de altos niveles de diversidad genética. Se debe añadir que existe una relación lineal entre heterocigosidad y heterosis, por lo tanto es probable que exista un alto potencial de estas poblaciones para adaptarse a las condiciones medioambientales.

Los valores de heterocigosidad observada pueden diferir de los valores de heterocigosidad esperada. Cuando se detectan estas diferencias se entiende que la población puede estar desviada del equilibrio Hardy – Weinberg (Revidatti, 2009). Cuando la heterocigosidad observada es mayor a la esperada es probable que se estén introduciendo genes nuevos a las poblaciones, en el caso contrario, probablemente sea un indicio de que algunos apareamientos consanguíneos están ocurriendo o exista una subestructura no detectada (Galíndez *et al.*, 2011; Maudet *et al.*, 2002).

Índice de Contenido Polimórfico (ICP)

Los valores de ICP obtenidos tuvieron un amplio rango de variación, siendo el menor valor para el locus SW215 y el índice superior para el S218 (Cuadro 4). De manera general, los valores más altos se corresponden con los microsatélites que presentan un mayor número

Cuadro 3. Heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He) para 13 marcadores microsatélites en seis poblaciones de cerdos Criollos venezolanos.

Marcador	Población ¹											
	Ma		ES		Ar		Gu		Ca		Cu	
	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He
S0005	0,619	0,604	0,729	0,590	0,586	0,564	0,655	0,738	0,536	0,633	0,742	0,619
S0155	0,524	0,664	0,571	0,706	0,600	0,732	0,621	0,678	0,476	0,589	0,633	0,741
S0215	0,100	0,177	0,320	0,490	0,448	0,487	0,250	0,363	0,103	0,267	0,281	0,424
S0218	0,688	0,833	0,556	0,700	0,690	0,684	0,667	0,603	0,690	0,734	0,500	0,613
S0225	0,545	0,812	0,536	0,730	0,733	0,741	0,586	0,622	0,724	0,787	0,600	0,720
S0227	0,571	0,542	0,308	0,558	0,393	0,573	0,217	0,335	0,407	0,408	0,385	0,559
SW24	0,636	0,716	0,731	0,733	0,629	0,792	0,643	0,636	0,724	0,774	0,679	0,618
SW240	0,714	0,605	0,429	0,623	0,767	0,688	0,792	0,777	0,462	0,560	0,452	0,476
SW632	0,467	0,756	0,760	0,623	0,778	0,696	0,545	0,656	0,440	0,569	0,774	0,676
SW857	0,600	0,610	0,654	0,691	0,414	0,664	0,387	0,317	0,833	0,715	0,710	0,671
SW911	0,762	0,779	0,520	0,708	0,414	0,717	0,387	0,720	0,333	0,713	0,806	0,719
SW936	0,684	0,764	0,577	0,649	0,276	0,568	0,419	0,618	0,552	0,716	0,742	0,753
SW951	0,667	0,557	0,286	0,312	0,655	0,618	0,828	0,656	0,714	0,623	0,633	0,627
Total ²	0,534	0,601	0,513	0,580	0,549	0,609	0,500	0,551	0,500	0,578	0,567	0,587

¹Ma: Masaguaral, ES: El Socoro, Ar: Arismendi, Gu: Guadarrama, Ca: Capanaparo, Cu: Cunaviche.

²Promedio no ponderado dentro de población.

Cuadro 4. Índice de contenido polimórfico para 13 microsatélites en seis poblaciones de cerdos Criollos venezolanos.

Marcador	Población ¹					
	Ma	ES	Ar	Gu	Ca	Cu
S0005	0,520	0,491	0,484	0,677	0,566	0,533
S0155	0,594	0,640	0,671	0,592	0,497	0,678
S0215	0,157	0,365	0,364	0,293	0,228	0,330
S0218	0,777	0,652	0,612	0,511	0,678	0,541
S0225	0,766	0,670	0,679	0,547	0,736	0,657
S0227	0,446	0,489	0,498	0,295	0,374	0,477
SW24	0,649	0,673	0,742	0,555	0,720	0,537
SW240	0,550	0,544	0,617	0,724	0,461	0,420
SW632	0,682	0,538	0,633	0,591	0,468	0,603
SW857	0,531	0,625	0,605	0,263	0,654	0,599
SW911	0,720	0,643	0,661	0,659	0,659	0,666
SW936	0,696	0,570	0,513	0,536	0,648	0,692
SW951	0,486	0,282	0,525	0,570	0,530	0,542
Total ²	0,541	0,513	0,543	0,487	0,516	0,520

¹Ma: Masaguaral, ES: El Socoro, Ar: Arismendi, Gu: Guadarrama, Ca: Capanaparo, Cu: Cunaviche.

²Promedio no ponderado dentro de población

de alelos y los menores valores de ICP concuerdan con los marcadores que tienen menor heterocigosidad, lo cual se corresponde con lo reportado en la literatura (Montenegro, 2012; Revidatti, 2009; Li *et al.*, 2004; Martínez *et al.*, 2004, 2005b). Sin embargo, en algunos casos estas relaciones no se cumplen, ya que, el valor de ICP depende no solo del número de alelos, sino de la frecuencia de estos.

La información expresada por un marcador viene dada por su valor de ICP. En este sentido, loci con valores superiores a 0,5 son muy informativos, entre 0,25 y 0,5 medianamente informativos y menores a 0,25 son poco informativos (Martínez *et al.*, 2005). Acorde a ésta clasificación dentro de cada población el marcador más informativo varió, siendo los más comunes S0128, SW24, S0225, SW240, SW936 y SW911.

Al visualizar los valores de ICP por población resalta que, de las poblaciones de cerdos Criollos venezolanos, solo en Guayabal el valor promedio es medianamente informativo, en el resto de las poblaciones el valor promedio es superior a 0,5. Estas diferencias entre poblaciones han sido reseñadas en la literatura (Landi *et al.*, 2011; Revidatti, 2009). En el cerdo Criollo venezolano los valores altamente informativos del PIC (promedio 0,52) pueden ser indicativos de la ausencia de programas de mejora genética y, por tanto, de baja o ausente presión de selección, teoría establecida

por Fang *et al.* (2009) y Li *et al.* (2004) para explicar los valores altos de ICP en cerdos Criollos chinos y taiwaneses, respectivamente.

Equilibrio Hardy – Weinberg

Cuando se probó el equilibrio para todos los marcadores utilizados considerando todas las poblaciones, el análisis arrojó que de 13 microsatélites probados, uno está en equilibrio (SW24) y el resto en desequilibrio ($P < 0,05$), lo que representa el 92,3% de los marcadores utilizados (Cuadro 5). Varios autores han evidenciado que cuando prueban los marcadores en el total de la población, estos en su mayoría se muestran en desequilibrio (Landi *et al.*, 2011; Chang *et al.*, 2009; Revidatti, 2009; Li *et al.*, 2004; Aranguren – Méndez, 2002). Sin embargo, cuando se analizan los marcadores por raza o población el desequilibrio mayoritario desaparece, dando paso a un mayor porcentaje de loci en equilibrio, comportamiento que es similar a las reseñas de Montenegro (2012), Landi *et al.* (2011), Martínez *et al.* (2004), Lemus *et al.* (2001) y Calvo *et al.* (2000).

El aumento de los loci que están en equilibrio Hardy - Weinberg entre la población total y el análisis dentro de cada población refleja una subestructura de la población (diferencias de las frecuencias alélicas entre poblaciones), lo que es citado como explicación en la

Cuadro 5. Equilibrio Hardy – Weinberg para 13 microsatélites en seis poblaciones de cerdos Criollos venezolanos (probabilidad de aceptación o rechazo de la hipótesis nula).

Marcador	Total ²	Población ¹					
		Ma	ES	Ar	Gu	Ca	Cu
S0005	0,000	0,423	0,000	0,834	0,234	0,052	0,609
S0155	0,037	0,159	0,057	0,200	0,646	0,402	0,511
S0215	0,000	0,001	0,105	0,710	0,122	0,007	0,080
S0218	0,000	0,283	0,073	0,000	0,692	0,120	0,000
S0225	0,000	0,146	0,072	0,139	0,326	0,702	0,039
S0227	0,001	1,000	0,002	0,007	0,094	0,199	0,023
SW24	0,148	0,442	0,186	0,384	0,714	0,733	0,285
SW240	0,000	0,717	0,006	0,594	0,811	0,541	0,604
SW632	0,000	0,003	0,005	0,685	0,228	0,443	0,000
SW857	0,000	0,307	0,009	0,000	0,559	0,214	0,312
SW911	0,000	0,168	0,166	0,077	0,000	0,000	0,347
SW936	0,000	0,473	0,505	0,000	0,032	0,047	0,818
SW951	0,000	0,210	0,100	0,392	0,184	0,002	0,754

¹Ma: Masaguaral, ES: El Socoro, Ar: Arismendi, Gu: Guadarrama, Ca: Capanaparo, Cu: Cunaviche.

²Se consideran las poblaciones en conjunto.

literatura consultada (Landi *et al.*, 2011; Revidatti, 2009; Martínez *et al.*, 2004; Lemus *et al.*, 2001).

Este efecto indica que cuando dos o más subpoblaciones tienen diferencias en las frecuencias alélicas, la heterocigosidad total o de la población en su conjunto se reduce dando paso al desequilibrio Hardy – Weinberg, aun cuando las subpoblaciones separadas estén en equilibrio (efecto Whalund). Dentro de cada población el número de loci que estuvieron en desequilibrio variaron entre dos (15,3%) para Masaguaral y Guayabal y cinco (38,4%) para El Socorro.

En el Chato Murciano se han reportado dos marcadores en desequilibrio atribuyéndose el efecto a una mayor heterocigosidad observada respecto a la esperada (Calvo *et al.*, 2000), mientras que en el cerdo Criollo argentino se atribuye a inferior heterocigosidad observada en relación a la esperada (Revidatti, 2009). En el presente trabajo se evidencia que no existe una relación directa, posiblemente por el efecto del azar. Para los cerdos Criollos venezolanos se encontraron menos marcadores en desequilibrio que los señalados en la literatura (Martínez *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2003).

CONCLUSIONES

Se encontró un número total de alelos elevado en las seis poblaciones de cerdos Criollos venezolanos, lo que evidencia la conservación de la variabilidad en los cerdos analizados. Las frecuencias alélicas para los marcadores microsatélites utilizados difieren entre poblaciones. Los valores de heterocigosidad e índice de contenido polimórfico indican un alto grado de variabilidad o biodiversidad genética dentro de los grupos; asimismo, existen evidencias de subestructura de la población de los cerdos Criollos venezolanos.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela por el programa de financiamiento a proyectos de grupo. Al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Plan Zamora.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aranguren - Méndez, J. 2002. Caracterización y relaciones filogenéticas de cinco razas asnales españolas en peligro de extinción mediante la utilización de marcadores microsatélites: su importancia en los programas de conservación. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de Veterinaria. Barcelona, España. 213 p.
- Aranguren - Méndez, J.; M. Gómez; J. Jordana. 2002. Hierarchical analysis of genetic structure in Spanish donkey breeds using microsatellite markers. *Heredity* 89: 207 – 211.
- Ayizanga, R.; Kayang, B.; Adomako, K.; Adenyo, C.; Inoue-Murayama, M. and Asamoah, L. 2016. Genetic diversity of some Ghanaian pigs based on microsatellite markers. *Livest. Res. Rural Dev.* 28(2). Disponible en <http://www.lrrd.org/lrrd28/2/ayiz28024.html>. [Consultado: 20/07/2016].
- Badan, A. 2003. Ganho com seleção e diversidades genéticas: medidas para monitorar o melhoramento populacional de arroz. Tesis Doctorado. Universidade Estadual de Campiñas. Campiñas, Brasil. 100 p.
- Barker, J. 1994. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. *Proc. 5th World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod.* Guelph, Canada. pp.501 – 508.
- Calvo, J.; J. Lobera; R. Osta; P. Zaragoza. 2000. Caracterización genética de la raza porcina Chato Murciano. *Arch. Zootec.* 49: 53 – 58.
- Canul, S.; V. Sierra; M. Martínez; O. Ortiz; J. Delgado; J. Véga – Pla; G. Pérez. 2005. Caracterización genética del cerdo Pelón mexicano mediante marcadores moleculares. *Arch. Zootec.* 54: 267 – 272.
- Chang, W.; H. Chu; Y. Jiang; S. Wang; C. Chen; K. Chen; C. Lin; Y. Ju. 2009. Genetic variation and phylogenetic of Lanyu and exotic pig breeds in Taiwan analyzed by nineteen microsatellite markers. *J. Anim. Sci.* 87: 1– 8.
- Fang, M.; X. Hu; W. Jin; N. Li; C. Wu. 2009. Genetic uniqueness of Chinese village pig populations inferred from microsatellite markers. *J. Anim. Sci.* 87: 3445 – 3450.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 1998. Razones que justifican la conservación de los animales domésticos. FAO. Roma, Italia. 6 p. Disponible en <http://www.fao.org/NEWS/1998/PDF/DADIS-s.PDF>. Consultado: 05/01/2007.

- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2004. Secondary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans. Measurement of domestic animal diversity (MoDAD): Recommended microsatellite markers. New microsatellite marker sets – Recommendations of joint ISAG/FAO Standing Committee. FAO. Roma, Italia. 58 p. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-aq569e.pdf>. Consultado: 10/01/2010.
- Galíndez, R.; C. Ramis; L. Angulo. 2011. Exploración inicial de la diversidad genética del cerdo criollo venezolano usando RAPD. *Rev. Fac. Agron. UCV* 37(2): 55 – 63.
- Hames, B; D. Rickwood. 1981. Gel electrophoreses of proteins. A practical approach. IRL Press. Oxford, EUA. pp 1-9.
- Hurtado, E. 2004. Evaluación preliminar del cerdo Criollo y los sistemas de producción en los estados Apure y Guárico de Venezuela. Tesis Doctoral en Ciencias Agrícolas. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía. Maracay, Venezuela. 118 p.
- Hurtado, E.; C. González; H. Vecchionacce. 2005. Estudio morfológico del cerdo criollo del estado Apure, Venezuela. *Zootecnia Trop.* 23(1): 17 – 26.
- Hurtado, E.; C. González; H. Vecchionacce. 2006. Morfometría de órganos vitales de cerdos Criollos en el estado Apure, Venezuela. *Zootecnia Trop.* 24 (3): 205 – 211.
- Kim, T.; K. Kim; B. Choi; D. Yoon; G. Jang; K. Lee; H. Chung; H. Lee; H. Park; J. Lee. 2005. Genetic structure of pig breeds from Korea and China using microsatellite loci analysis. *J. Anim. Sci.* 83: 2255 – 2263.
- Landi, V.; J. Negro; J. Vega – Pla; C. Gortázar; J. García – Aznar; J. Delgado; A. Martínez. 2011. Caracterización genética del Jabalí de la Estación Biológica de Doñana. *Arch. Zootec.* 60(231): 373 – 376.
- Lemus, C.; R. Ulloa; M. Ramos; F. Estrada; R. Alonso. 2001. Genetic analysis of Mexican Hairless pig populations. *J. Anim. Sci.* 79: 3021 – 3026.
- Li, S.; S. Yang; S. Zhao; B. Fan; M. Yu; H. Wang; M. Li; B. Liu; T. Xiong; K. Li. 2004. Genetic diversity analyses of 10 indigenous Chinese pig populations based on 20 microsatellites. *J. Anim. Sci.* 82: 368 – 374.
- Martínez, A.; A. Rodero; J. Vega – Pla. 2000a. Estudio con microsatelites de las principales variedades de ganado porcino del tronco Ibérico. *Arch. Zootec.* 49: 45 – 52.
- Martínez, A.; J. Delgado; A. Rodero; J. Vega – Pla. 2000b. Genetic structure of the Iberian pig breed using microsatellites. *Anim. Genet.* 31: 295 – 301.
- Martínez, A.; J. Delgado; J. Vega – Pla; F. Escribano; A. Cabello. 2003. Negro de Los Pedroches, the molecular definition of a new variety of the Iberian pig breed. *Arch. Zootec.* 52: 219 – 223.
- Martínez, A.; J. Vega – Pla; J. Bermejo. 2004. Aplicación de marcadores genéticos moleculares al estudio de razas minoritarias: el cerdo Ibérico. *In* Delgado Bermejo, J.V. (Ed.) Biodiversidad Porcina Iberoamericana: Caracterización y Uso Sustentable. Universidad de Córdoba. Córdoba, España. pp. 281 – 301.
- Martínez, A.; E. Pérez – Pineda; J. Vega – Pla; C. Barba; F. Velázquez; J. Delgado. 2005. Caracterización genética del cerdo Criollo Cubano con microsatelites. *Arch. Zootec.* 54: 369 – 375.
- Martínez, A.; J. Quiroz; J. Marques; J. Delgado. 2007. Estudio de la diversidad genética del cerdo negro Canario con microsatelites de ADN. *Arch. Zootec.* 56 (Supl 1): 425 – 428.
- Maudet, C.; G. Luikart; P. Taberlet. 2002. Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. *J. Anim. Sci.* 80: 942 – 950.
- Montenegro, M. 2012. Caracterización genética de los cerdos Pampa Rocha de Uruguay. Tesis de Maestría. Universidad de la República. Facultad de Veterinaria. Montevideo, Uruguay. 118 p.
- Pérez, E.; A. Martínez; J. Delgado; F. Velásquez; D. Segura. 2004. Estudio preliminar de la diferenciación genética entre las dos variedades del cerdo Criollo cubano. *Arch. Zootec.* 53: 359 – 362.
- Raymond, M.; J. Rousset. 1995. GENEPOP: Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity* 86: 248 – 249.
- Revidatti, M. 2009. Caracterización de cerdos Criollos del nordeste argentino. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba. Departamento de Genética. Córdoba, España. 259p.

- Revidatti, M.; J. Delgado Bermejo; L. Gama; V. Landi Periat; C. Ginja; L. Álvarez; J. Vega – Pla; A. Martínez; BioPig Consortium. 2014. Genetic characterization of local Criollo pig breeds from the Americas using microsatellite markers. *J. Anim. Sci.* 92: 4823 – 4832.
- Thuy, N.; E. Melchinger – Wild; A. Kuss; N. Cuong; H. Bartenschlager; H. Geldermann. 2006. Comparison of Vietnamese and European pig breeds using microsatellites. *J. Anim. Sci.* 84: 2601 – 2608.
- Vargas, J.; F. Velázquez; R. Galíndez; E. Pérez; A. Ponce; A. Sierra; S. Llambí; M. Montenegro; L. Álvarez; M. Revidatti; A. Martínez; V. Landi; J. Delgado; J. Carril; E. Chacón. 2015. Estructura y relaciones genéticas del cerdo criollo de Ecuador. *Rev. Electrón. Vet.* 16(7). Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070715/071504.pdf>. Consultado: 10/01/2016.
- Vicente, A.; M. Carolino; M. Sousa; C. Ginja; F. Silva; A. Martínez; J. Vega – Pla; N. Carolino; L. Gama. 2008. Genetic diversity in native and commercial breeds of pigs in Portugal assessed by microsatellites. *J. Anim. Sci.* 86: 2496 – 2507.
- Yang, S.; Z. Wang; B. Liu; G. Zhang; S. Zhao; M. Yu; B. Fan; M. Li; T. Xiong; K. Li. 2003. Genetic variation and relationships of eighteen Chinese indigenous pig breeds. *Genet. Sel. Evol.* 35: 657 – 671.