

**DETECCIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DEL CERDO DOMÉSTICO (*Sus scrofa domestica*)
UTILIZANDO MARCADORES MICROSATÉLITES, EN SAHAGÚN-CÓRDOBA, COLOMBIA**

***Detection of Genetic Diversity of the Domestic Pig (*Sus scrofa domestica*) by
Means Microsatellite Markers in Sahagún - Córdoba, Colombia***

Enrique Pardo^{*1}, César Betancur^{**} y Luis Rodríguez^{***}

^{*}Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Básicas. Universidad de Córdoba. Colombia. ^{**}Departamento de Ciencias Pecuarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Córdoba. Colombia.

^{***}Departamento de Agronomía. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Córdoba. Colombia

Correo-E:epardop@correo.unicordoba.edu.co

Recibido: 00/0/00 - Aprobado: 00/00/00

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la caracterización genética de una población de cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica*) en Sahagún, Departamento de Córdoba, Colombia (8° 57' 02" Norte y 75° 26' 44" Oeste), para identificar su situación genética. Se estudiaron 51 muestras de la población. Se han emplearon 20 microsatélites, cinco pertenecen a la lista de los recomendados por la FAO / ISAG (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura / Sociedad Internacional de Genética Animal) para estudios de biodiversidad porcina y los *loci* restantes representan la mayor parte del genoma porcino. Con los análisis se pudo determinar que todos los microsatélites utilizados han resultado polimórficos y se han detectado, entre 3 (S0385) y 13 (SW780) alelos, con un número medio de alelos de 6,05 y un total de 121 alelos. La heterocigosidad media esperada fue 0,5219 y la observada 0,5581. Los valores del PIC (*Polymorphism Information Content*, por sus siglas en inglés) oscilaron entre 0,2542 y 0,7021 para los *loci* S0385 y SW780 respectivamente. Los resultados obtenidos permiten concluir que el cerdo doméstico en Sahagún, presenta alto grado de variabilidad genética.

(Key words: Genetic variation; Hardy-Weinberg equilibrium; alleles; *Sus scrofa domestica*; heterozygosity)

ABSTRACT

The objective of this research was to study the genetic diversity of a population of domestic pigs (*Sus scrofa domestica*) in the municipality of Sahagún, Department of Córdoba, Colombia (8 ° 57 '02' 'North and 75 ° 26 '44' 'West). For this purpose, 51 samples of the population were studied, using 20 microsatellites, 5 of which belong to the list recommended by FAO/ISAG (United Nations Food and Agriculture Organization/ International Society of Animal Genetics) for studies of porcine biodiversity and the remaining loci represent the major part of the porcine genome. From the analysis performed, it was possible to determine that all the microsatellites used were polymorphic, with 3 (S0385) and 13 (SW780) alleles, with an average number of alleles of 6.05 for a total of 121 alleles. The expected mean heterozygosity was 0.5219 and the observed was 0.5581. The values of the Polymorphism Information Content (PIC) ranged from 0.2542 to 0.7021 for loci S0385 and SW780, respectively. The results allow us to conclude that the domestic pig in Sahagún, has a high degree of genetic variability.

(Palabras clave: Variación genética; equilibrio Hardy-Weinberg; alelos; *Sus scrofa domestica*; heterocigosidad)

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

INTRODUCCIÓN

El cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica*) es un mamífero cuadrúpedo artiodáctilo perteneciente al grupo Suinos, del género *Sus* (Familia Suidae). Los suidae se originaron hace 20 millones de años, su éxito es evidente por la multitud de hábitats en los que se han encontrado como las islas tropicales de sudeste de Asia, la cordillera del Himalaya, Siberia, el norte de África, las islas del Pacífico, Australia y América [1]. Su domesticación se inició en el Cercano Oriente hace 13.000 años; sin embargo, se produjo un proceso similar e independiente de domesticación en China [2].

Resultados de estudios de ADN en restos óseos de cerdos neolíticos europeos, revelan que los primeros cerdos domésticos llegaron a Europa desde el Cercano Oriente. Posteriormente, también se produjo en Europa procesos de domesticación de jabalíes salvajes [3]. Los registros históricos indican que los cerdos domésticos asiáticos fueron introducidos en Europa durante los siglos XVIII y XIX, mezclándose con las razas europeas [2].

Según Pinheiro [4], en el segundo viaje de Cristóbal Colón en 1493 llegaron a La Española, en América, los primeros cerdos. Años después y por exigencia de Carlos V, la expedición de Rodrigo de Bastidas que partió de La Española y fundó a Santa Marta en 1525, trajo 300 cerdos [5].

Según Cabeza [6], parece 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 es una de las regiones de Colombia con mayor población de cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica*) con una producción estimada de 157.516 ejemplares en el año 2016, de los cuales 68.937 cerdos no están tecnificados y son ejemplares de traspatio [7], siendo individuos en su mayoría, mezcla de raza criolla con otras razas.

La caracterización genética de las poblaciones, permite comprobar el estado de la diversidad genética, elemento concluyente en la determinación de estrategias de crianza y de programas genéticos de conservación [8].

Los microsatélites son secuencias de 2-6 nucleótidos repetidas en tándem; también se conocen como identificar siglas(STRs). Se encuentran

abundantemente distribuidos en el genoma, aunque su distribución en los cromosomas no es uniforme al encontrarse en menor abundancia en las regiones subtelméricas, [9]. De todos los marcadores moleculares, los microsatélites han sido los que demuestran mayor validez en los usos zootécnicos, es decir, para la identificación animal, el control genealógico, y la caracterización de las poblaciones.

El objetivo del presente estudio fue identificar el estado de la diversidad genética de la población de cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica*), en Sahagún-Córdoba, mediante la utilización de 20 microsatélites, calculando heterocigosidades por *locus*, heterocigosidad media y contrastando dicha información con la obtenida en otras poblaciones, con los mismos marcadores genéticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de Estudio

Las muestras de cerdo doméstico utilizadas en el estudio fueron recolectadas en Sahagún, Colombia situado a 8° 57' 02" Norte y 75° 26' 44" Oeste.

Recolección de la Muestra

Se tomaron muestras de pelo de 51 ejemplares elegidos al azar, de individuos provenientes de 10 granjas de explotaciones familiares. Para determinar el tamaño de la muestra en la población, se aplicaron criterios sugeridos por Nei [10], los cuales consideran que el tamaño mínimo de la muestra debe ser mayor a 30 individuos. Por tratarse de animales provenientes de explotaciones familiares, no se cuenta con registros de genealogía.

Procedimiento Experimental

De cada una de las muestras se extrajo el ADN, mediante una modificación al protocolo de Sambrook y Russell [11]. Se usaron 20 microsatélites, cinco pertenecen a la lista de marcadores de microsatélites recomendado por la FAO/ISAG [12], para estudios de biodiversidad porcina y los *loci* restantes representan la mayor parte del genoma porcino (Cuadro 1). Una vez extraído el ADN se amplificó cada marcador mediante la técnica de la PCR (*Polimerase Chain Reaction*) en las 51 muestras recolectadas, de acuerdo con las condiciones de la PCR en un volumen final de 25 μ L, que incluyó 10 μ L de dNTPs (100 μ M), 2,5 μ L de amortiguador

Cuadro 1. Microsatélites, número de alelos detectados (NA), repetición y rango alélico (pb) y ubicación en el cromosoma del cerdo doméstico en Sahagún (Córdoba, Colombia)

Marcador	NA	Repetición	Allelic range (bp)	Cromosoma
SW489	4	(GT) ₁₆	148 - 181	4
SW2519	10	(CA) ₂₀	187 - 232	14
SW780	13	(GT) ₁₁ (GA) ₉	115 - 170	1
SW2083	5	(GT) ₁₀	143 - 167	15
SW2019	4	(GT) ₁₄ AT(GT) ₄	127 - 147	7
SW2410	4	(GT) ₁₅	103 - 137	8
S0215	7	(CT)18 (CA)12	125 - 194	13
SW72	5	(GT) ₁₅	97 - 119	3
SW911	4	(CA) ₂₂	147 - 177	9
IFNG	6	(GA) ₁₁	221 - 245	5
SW1041	9	(CA) ₉	93 - 101	10
SWR345	5	(CA) ₁₂	134 - 160	17
TNFB	7	(CTG) ₂₀	142 - 203	7
S0385	3	(CA) ₂₁	145 - 192	11
SW787	6	(CA) ₁₉	144 - 164	18
S0090	6	(CA) ₂₄	227 - 251	12
SW1083	4	(GT) ₁₅	108 - 152	7
SW957	8	(GT) ₂₈	112 - 157	12
SW2427	7	(GT) ₁₃	116 - 146	17
SW1067	4	(CT)20 (CA)22	137 - 175	6

10X, 1,0 μL de MgCl_2 (25 mM), 3,0 μL de cebadores específicos de cada *locus* de 10 pmol, 0,3 μL de enzima Taq ADN polimerasa (Invitrogen®), 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.

La reacción de la PCR se realizó en un termociclador *Mycycler* Bio-Rad® y consistió de una primera fase de desnaturalización de 95°C durante 5 min, una segunda fase de 35 ciclos de: 30s de desnaturalización a 94°C, 30s a la temperatura óptima de anillamiento (56°C, 58°C, 60°C y 62°C, dependiendo del marcador), luego una tercera fase de extensión a 72°C por 50 seg y finalmente, una fase de extensión de 5 min a 72°C. Los productos de la PCR se analizaron por medio de electroforesis en gel de poliacrilamida al 12% en una cámara vertical de secuencia ADN Mini-Protean II (Biorad®). La electroforesis se prolongó entre 3-5 h, dependiendo

del tamaño del microsatélite, a 15W constantes y un voltaje que fluctuó entre los 300-400V. La muestra sometida a electroforesis consistió en una mezcla de 2 μL del amplificado y 3 μL de tampón de carga (azul de bromofenol 2% p/v, disuelto en agua MiliQ). A continuación, los marcadores se visualizaron por exposición del gel a luz blanca, previa tinción con nitrato de plata [13].

Análisis Estadístico

Para determinar el tamaño de los alelos se utilizó escalera alélica y la asignación alélica se hizo mediante ajuste a una curva de regresión lineal desarrollada a partir de las distancias de migración de los fragmentos de tamaño conocido.

Las frecuencias alélicas, las heterocigosidades, el valor de FIS [14], la existencia de equilibrio Hardy-Weinberg (HW), la riqueza alélica y el coeficiente de consanguinidad se evaluaron mediante el programa

GENEPOP versión 4.0.6 [15]. Adicionalmente, se calculó el Contenido de Información Polimórfica (PIC) de cada microsatélite mediante el programa CERVUS versión 3.0.3 [16].

RESULTADOS

Todos los microsatélites utilizados mostraron un alto grado de polimorfismo, evidenciado en el promedio de alelos por *locus*, detectándose un total de 121 alelos, con un rango comprendido entre 3 (S0385) y 13 (SW780) por *locus* (Cuadro 1) y un número medio de alelos de 6,05.

El contenido de información polimórfica (PIC) obtenido (Cuadro 2) varió entre 0,2542 (S0385) y 0,7021 (SW780), correspondiendo estos valores con los marcadores que presentaron el menor y el mayor número de alelos.

El estadístico FIS (Cuadro 2) varió entre -0,394 para SW911 y 0,467 para el marcador SW1067. Once de los 20 marcadores presentan signo positivo y 9 presentan signo negativo. El FIS promedio encontrado fue de -0,0309 (Cuadro 3).

El alto grado de polimorfismo también es evidenciado por el número promedio de alelos encontrado en la población de 6,05 (Cuadro 3).

Cuadro 3. Número de muestras analizadas (N), número promedio de alelos (NA), riqueza alélica (RA), heterocigosidad media esperada (He), heterocigosidad media observada (H_O), contenido medio de información polimórfica (PIC), coeficiente de consanguinidad promedio (FIS) para los microsatélites utilizados en la población de cerdos domésticos de Sahagún, Colombia.

N	NA	RA	He	H _O	PIC	F _{IS}
51	6,05	4,3	0,5219	0,5581	0,5498	-0,0309

DISCUSIÓN

Los resultados para todos los microsatélites utilizados muestran un alto grado de polimorfismo, evidenciado en el promedio de alelos por *locus*, estudios previos de diversidad genética en cerdos reportan valores promedio mayores y menores de alelos por *locus* así: entre 5 y 13 alelos [17] y valores entre 2 y 3 alelos [18].

Aplicando el estadístico FIS a los 20 marcadores, 11 presentan signo positivo, indicando exceso de homocigotos, y 9 presentan signo negativo. El FIS promedio de -0,0309, revela un valor bajo de exogamia.

Liu y Muse [19] reportaron que de los 20 marcadores analizados, 16 pueden ser considerados muy informativos (PIC > 0,5), a la hora de detectar

Cuadro 2. Microsatélites tipificados, heterocigosidad esperada (He), heterocigosidad observada (H_O), PIC, valores de probabilidad por desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg e índice de fijación FIS del cerdo doméstico de Sahagún, Córdoba

Marcador	He	H _O	PIC	HW (p-value)	F _{IS}
SW489	0,5341	0,6349	0,5323	0,4433 NS	0,312
SW2519	0,7453	0,2418	0,3926	0,2382 NS	0,222
SW780	0,2453	0,3576	0,7021	0,1282 NS	-0,211
SW2083	0,5524	0,5435	0,5557	0,0043*	-0,032
SW2019	0,2994	0,3113	0,6080	0,0032*	-0,393
SW2410	0,6903	0,4014	0,3215	0,5777 NS	0,127
S0215	0,6287	0,5125	0,6447	0,3986 NS	0,092
SW72	0,2371	0,7566	0,6998	0,1233 NS	-0,381
SW911	0,6687	0,6054	0,6128	0,7261 NS	-0,394
IFNG	0,4672	0,6281	0,5321	0,7742 NS	0,105
SW1041	0,6971	0,3187	0,6223	0,2634 NS	-0,326
SWR345	0,4930	0,5727	0,5433	0,0039*	-0,314
TNFB	0,3159	0,3125	0,2561	0,1165 NS	0,034
S0385	0,4538	0,6916	0,2542	0,5497 NS	0,089
SW787	0,4856	0,6221	0,6255	0,2344 NS	0,200
S0090	0,7004	0,7001	0,5886	0,4366 NS	0,026
SW1083	0,5950	0,3802	0,5667	0,6577 NS	-0,028
SW957	0,8083	0,7231	0,6852	0,3219 NS	-0,327
SW2427	0,6954	0,5986	0,5983	0,0293*	0,114
SW1067	0,1264	0,1341	0,6549	0,0176 NS	0,467
Mean	0,5219	0,5581	0,5498		-0,030

NS: No significativo; *Marcadores que no están en equilibrio de Hardy-Weinberg (p < 0,05)

variabilidad genética en la población de cerdo doméstico en Sahagún, Colombia y observándose que 4 marcadores son medianamente informativos ($PIC > 0,25$). El valor medio de PIC en el presente estudio, resultó menor en comparación con datos previamente publicados en un estudio realizado con cerdos en razas portuguesas y europeas [20] y similar a los reportados por estudios que se realizaron en cerdos nativos de China [21].

Del total de microsatélites analizados, 16 se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W), por lo que puede indicarse que la población es genéticamente estable (Cuadro 2). En un principio, esto podría mostrar que los apareamientos dentro de la población se produjo de forma aleatoria (en lo referente a los marcadores considerados) o que, si hay nuevos animales que se han sumado recientemente a esta población, éstos provienen de otras poblaciones con el mismo acervo genético de los individuos de la población analizada [22].

Cuatro *loci* mostraron una desviación significativa con respecto al equilibrio H-W (SW2083, SW2019, SWR345 y SW2427), revelando un exceso de homocigotos. El exceso de homocigotos en una población podría ser el resultado de eventos de endogamia dentro de la misma [23]. 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. Igualmente, pudiera ocurrir la existencia de una posible estructura genética por subdivisión, (efecto *Wahlund*). De ser así, eso significaría que existen diferencias marcadas entre las poblaciones cercanas de cerdo doméstico para los marcadores (SW2083, SW2019, SWR345 y SW2427), pero no para los otros marcadores. Si esas diferencias para estos marcadores no se han eliminado es porque el flujo génico entre poblaciones cercanas es limitado (aspecto que no muestran los otros marcadores), o que dichos marcadores (SW2083, SW2019, SWR345 y SW2427), están ligados a genes sometidos a selección natural que actúen diferencialmente a nivel micro o macro-espacial. Otra posibilidad es la presencia de alelos nulos en dichos *loci* [24], suceso descartable en este estudio por no encontrarse. También pudo ocurrir un efecto fundador (llegaron pocos reproductores que se multiplicaron mucho).

En el presente estudio la heterocigosidad media

esperada fue de 0,5219 y la observada de 0,5581 (Cuadro 3), lo cual muestra un alto grado de variabilidad, ya que así se considera cuando los valores superan 0,5. Este valor es similar a los reportados en estudios previos llevados a cabo en cerdos criollos de Uruguay, cerdo Criollo Cubano, el Pelón Mexicano y los Criollos Argentinos [25-27].

El porcentaje de individuos heterocigotos se comportó por encima del 50%; alcanzándose valores de 55,81%, para la heterocigosidad media observada y 52,19% para la heterocigosidad media esperada. Estos valores son similares a los reportados en Dinamarca y Holanda y se ven superados por los reportados en China, Brasil y Tailandia [28-30].

Los parámetros número medio de alelos por *locus* y riqueza alélica indican que dicha población exhibe cierto grado de variabilidad.

Por ser éste es el primer trabajo en el que se intenta conocer la diversidad genética poblacional de *Sus scrofa doméstica* en Sahagún, Colombia y no existir información previa para explorar la posibilidad de pérdida de diversidad genética en el tiempo; no se puede descartar la posibilidad de procesos endogámicos para esta población de la región del Caribe colombiano.

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

Estos resultados permiten concluir que los microsatélites utilizados en la población de cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica*) en Sahagún, Colombia evidenciaron un alto grado de polimorfismo. Además, el gran número de marcadores con un PIC elevado facilitarían la implementación y optimización de esta técnica para otros estudios dentro de la raza como la investigación genealógica y la asignación de individuos a poblaciones. De igual manera, los niveles de heterocigosidad observada y esperada encontrados en el presente estudio, indican que el cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica*) en Sahagún, Colombia muestran alto grado de variabilidad genética. Con base en los resultados, se sugiere realizar nuevas investigaciones de diversidad genética en otras poblaciones de cerdo doméstico del Caribe colombiano con el objeto de caracterizar genéticamente dichas poblaciones.

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores mencionan no tener conflictos de intereses.

APORTE DE LOS AUTORES AL TRABAJO

EP y CB: Toma de muestras, fase experimental, análisis e interpretación de los datos y edición del manuscrito. LR: Manejo de *software*, edición del manuscrito.

REFERENCIAS

- Frantz L, Meijaard E, Gongora J, Haile J, Groenen MA, Larson G. The Evolution of Suidae. *Annu Rev Anim Biosci.* 2016; 4:1-25.
- Giuffra E, Kijas JM, Amarger V, Carlborg O, Jeon JT, Andersson L. The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression. *Genetics.* 2000; 154(4):1785-1791.
- Larson G, Albarella U, Dobney K, Rowley-Conwy P, Schibler J, Tresset A, *et al.* "Ancient DNA, pig domestication, and the spread of the Neolithic into Europe." *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104 (39):15276-15281.
- Pinheiro, M. Los cerdos. Colección de textos de agronomía y veterinaria. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur. Sexta edición. 1987; p 72.
- Peña M, Mora C. Historia de Colombia. Bogotá: Editorial Norma. 1977; p 84.
- Cabeza, MA. Estudio comparativo de la raza nativa de cerdos Zungo con razas mejoradas. Tesis Maestría. Universidad Nacional de Colombia-ICA. Bogotá. 1977. p 219.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. ICA. Censo pecuario nacional Colombia. 2016. [Internet]; 2016 (Acceso 04 de febrero de 2016). Disponible en <http://www.ica.gov.co/getdoc/8232c0e5-be97-42bd-b07b-9cdbfb07fcac/Censos-2012.aspx>.
- Pimentel L, Tambasco-Talhari D, Pozzi A, Lehmann L, Correia De Almeida L. Genetic characterization of Aberdeen Angus cattle using molecular markers. *Genet Mol Biol.* 2003; 26(2):133-137.
- Koreth J, O'leary J, Mcgee O. Microsatellites and PCR genomic analysis. *J Pathol.* 1996; 178:239-248.
- Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 1978; 89:583-590.
- Sambrook J, Russell DW. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- FAO. *Molecular Genetic Characterization of Animal Genetic Resources.* 2015. [Internet]; 2016 (Acceso 24 de enero de 2016). Disponible en <http://www.fao.org/docrep/014/i2413e/i2413e00.htm>.
- Qiu S, Chen J, Lin S, Lin X. A comparison of silver staining protocols for detecting DNA in polyester-backed polyacrylamide gel. *Braz J Microbiol.* 2012; 43(2): 649-652.
- Weir BS. Estimating F-Statistics: A Historical View. *Philos Sci.* 2012; 79:637-643.
- Rousset F. Genepop 007: a complete reimplementation of the genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour.* 2008; 8:103-106.
- Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol Ecol.* 2007; 16:1099-1106.
- Megens HJ, Crooijmans R, Cristobal MS, Hui X, Li N, Groenen MM. Biodiversity of pig breeds from China and Europe estimated from pooled DNA samples: differences in microsatellite variation between two areas of domestication. *Gen Sel Evol.* 2008; 40:103-128.
- Chang WH, Chu HP, Jiang YN, Li SH, Wang Y, Chen CH. Genetic variation and phylogenetics of Lanyu and exotic pig breeds in Taiwan analyzed by nineteen microsatellite markers. *J Anim Sci.* 2009; 87:1-8.
- Liu K, Muse SV. PowerMarker: integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics* 2005; 21:2128-2129.
- Vicente AA, Carolino MI, Sousa MC, Ginja C, Silva FS, Martinez AM. Genetic diversity in native and commercial breeds of pigs in Portugal assessed by microsatellites. *J Anim Sci.* 2008; 86: 2496-2507.
- Zhang GX, Wang ZG, Sun FZ, Chen WS, Yang GY, Guo SJ. Genetic diversity of microsatellite *loci* in fifty six Chinese native pig breeds. *Yi Chuan Xue Bao.* 2003; 30(3): 225-233.
- Wang J. On the measurements of genetic differentiation among populations. *Genet Res.* 2012; 94: 275-289.
- De Luca D, Catanese G, Procaccini G, Fiorito, G. *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) in the Mediterranean Sea: Genetic diversity and population structure. *PloS one,* 2016; 11(2): 1-19.
- Norderhaug KM, D'Auriac MA, Fagerli CW, Gundersen H, Christie H, Dahl K, *et al.* Genetic diversity of the NE Atlantic sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* unveils chaotic genetic patchiness possibly linked to local selective pressure. *Mar Biol.* 2016; 163(2):1-13.
- Montenegro M, Llambí S, Castro G, Barlocco N, Vadell A, Landi V, *et al.* Genetic characterization of Uruguayan Pampa Rocha pigs with microsatellite markers. *Genet Mol Biol.* 2015; 38(1):48-54
- Canul M, Sierra A, Martínez A, Ortiz O, Delgado JV, Vega-Pla J, *et al.* Caracterización genética del cerdo pelón mexicano mediante marcadores moleculares. *Arch Zootec.* 2005; 54:267-272.
- Revidatti M. Caracterización de cerdos Criollos del

- nordeste argentino. Tesis Doctoral. Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. Córdoba, España. 2009. 259p.
28. San Cristobal M, Chevalet C, Haley CS, Joosten R, Rattink AP. Genetic diversity within and between European pig breeds using microsatellite markers. *Anim Genet.* 2006; 37:189–198.
29. Fang M, Hu X, Jin W, Li N, Wu C. Genetic uniqueness of Chinese village pig populations inferred from microsatellite markers. *J Anim Sci.* 2009; 87:3445-3450.
30. Sollero BP, Paiva SR, Faria DA, Guimaraes SE, Castro S, Egito A. Genetic diversity of Brazilian pig breeds evidenced by microsatellite markers. *Livest Sci.* 2009; 123:8-15.