

Variación genética en cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica*) de Córdoba-Colombia basada en marcadores microsatélites

Genetic variation in domestic pig *Sus scrofa domestica* populations in Cordoba-Colombia based on microsatellite markers

Iván Meléndez Gélvez^a, Enrique Pardo Pérez^b, Teodora Inés Cavadía Martínez^b

RESUMEN

Se evaluó mediante veinte microsatélites la variación genética de tres poblaciones de cerdos en Córdoba-Colombia. Todos los loci estudiados fueron polimórficos con una heterocigosidad observada que osciló en un rango de 0.2 a 84.2 % (con una media de 68.6 %) y una heterocigosidad esperada que varió entre 5.6 a 83.8 % (con una media de 70.2 %). El valor del contenido de información polimórfica (PIC) para todos los marcadores analizados fluctuó entre 0.17 (el menos informativo) y 0.83 (el más informativo). El nivel de diferenciación genética F_{ST} entre pares de poblaciones varió en el rango de 0.07 a 0.11, siendo estadísticamente significativo en todos los pares analizados. En conclusión, los niveles de heterocigosidad esperada encontrados en el presente estudio, indican que el cerdo doméstico en Córdoba, muestra un alto grado de variabilidad genética. De igual manera, la identidad genética de Nei y el estadístico F_{ST} indican cercanía genética entre las poblaciones de Momil y Cereté, a las que se une Tierralta, indicio de migración entre esas tres poblaciones, pero manteniendo cada una su identidad genética.

PALABRAS CLAVE: Colombia, Hardy-Weinberg, Heterocigosidad, Microsatélites, Polimorfismos.

ABSTRACT

Genetic variation in three populations of pigs in Cordoba, Colombia was evaluated by 20 microsatellite. All loci studied were polymorphic, with an observed heterozygosity ranging from 0.2 to 84.2 % (mean 68.6 %) and expected heterozygosity ranged from 5.6 to 83.8 % (mean 70.2 %). The polymorphic information content (PIC) value for all markers analyzed ranged from 0.17 (least informative) and 0.83 (the most informative). The level of genetic differentiation F_{ST} between pairs of populations varied in the range from 0.07 to 0.11, being statistically significant in all analyzed pairs. In conclusion, the levels of expected heterozygosity found in the present paper show that the domestic pig in Cordoba, exhibits a high degree of genetic variability. Similarly, the genetic identity of Nei and statistical F_{ST} indicate genetic closeness between populations Momil and Cereté, which binds Tierralta, indicating migration between these three populations but keeping each its genetic identity.

KEY WORDS: Colombia, Hardy-Weinberg, Heterozygosity, Microsatellite, Polymorphisms.

El cerdo es un mamífero artiodáctilo perteneciente a la familia Suidae, con cuerpo pesado, piel gruesa, hocico largo y flexible; patas cortas con pezuñas y cola corta. Estudios paleontológicos ubican a los cerdos en bosques

The pig is an artiodactyl mammal belonging to the Suidae family. Paleontological data suggest the earliest pig species inhabited the forests and swamps of Eurasia about forty million years ago. Endemic to the Old World, pigs arrived in

Recibido el 4 de diciembre de 2014. Aceptado el 1° de febrero de 2015.

^a Departamento de Biología, Universidad de Pamplona Km 1 vía Bucaramanga. Pamplona (Norte de Santander), Colombia. imgelvez@unipamplona.edu.co. Correspondencia al primer autor.

^b Departamento de Biología, Universidad de Córdoba. Montería. (Córdoba) Colombia.

y pantanos del continente Euroasiático hace unos cuarenta millones de años. Los conquistadores españoles en su llegada a América, transportaron todo tipo de animales domésticos, y los repartieron por todo el nuevo territorio. El cerdo llegó en primer lugar a Santo Domingo, Puerto Rico, Cuba y Jamaica, procedente de las Islas Canarias en el segundo viaje de Cristóbal Colón en 1493. Años más tarde y por imposición del rey Carlos V, la expedición de Rodrigo de Bastidas que partió de la española y fundó a Santa Marta en 1525, trajo 300 cerdos⁽¹⁾. Es posible que los cerdos traídos por Bastidas sean los primeros que llegaron a Colombia. Parece que los primeros cerdos fueron introducidos al Departamento del Córdoba, entre los años 1500-1550 durante la época de la conquista⁽²⁾.

En el departamento de Córdoba, el cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica*) se ha mantenido presente en las comunidades campesinas en poblaciones de subsistencia como fuente importante de ingresos y proteínas. Es muy probable que estos animales al desarrollar mecanismos de adaptación al trópico, lograron producir y reproducirse, neutralizando factores perjudiciales tales como: alimentación incompleta, escasez de agua, cruzamientos desfavorables, resistencia a enfermedades y manejo precario⁽³⁾. Información genética sobre poblaciones de cerdos en el Caribe colombiano y en especial de los cerdos domésticos (*Sus scrofa domestica*) en Córdoba, es escasa, lo que hace necesario una atención especial, para así poder identificar su situación genética. Por esta razón, estudiar la variación genética de los cerdos domésticos en Momil, Cereté y Tierralta, Córdoba (Colombia), permitirá identificar su estado de variabilidad genética, un elemento concluyente en la determinación de estrategias de crianza y de programas genéticos de conservación⁽⁴⁾ y valorarlo como patrimonio genético de la región cordobesa.

El estudio de polimorfismos de ADN mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)⁽⁵⁾, consiste en la amplificación *in vitro* de un

the New World with European colonists. They were first introduced to the islands of Hispaniola, Puerto Rico, Cuba and Jamaica from the Canary Islands on Columbus's second voyage in 1493. Thirty-two years later, King Carlos V ordered 300 pigs to be brought along on the Rodrigo de Bastidas expedition, leaving Hispaniola to found Santa Marta on the northern coast of South America⁽¹⁾. These may be the first pigs to have arrived in what was to become Colombia, although pigs were also introduced into present-day Cordoba Department during the Spanish conquest from 1500 to 1550⁽²⁾.

Domestic pigs (*Sus scrofa domestica*) are still present in farming communities as an important income and protein source. Over the centuries, pigs in the region have adapted to the tropical conditions, successfully reproducing despite challenges such as an incomplete diet, lack of water, unfavorable crosses, disease and inadequate growing practices⁽³⁾. Population genetic data on pigs in the Colombian Caribbean and especially domestic pigs (*Sus scrofa domestica*) in Cordoba, is scarce, requiring special attention to identify their genetic status. For this reason, studying genetic variation in domestic pigs in Momil, Cerete and Tierralta, Cordoba (Colombia), will identify their state of genetic variability, a conclusive element to determine strategies for breeding and genetic conservation programs⁽⁴⁾ and rating it as genetic patrimony of the Cordoba Region.

Study of DNA polymorphisms with polymerase chain reaction (PCR) analysis involves *in vitro* amplification of a specific DNA fragment⁽⁵⁾. It is currently one of the most frequently used molecular genetics techniques, and the most used in microsatellite marker and many other genetic population study techniques. Microsatellite markers consist of from two to seven continuously repeated base pairs of DNA segments. These are called di-, tri- and tetranucleotide segments, and are a valuable data source due to their abundance throughout eukaryote genomes, high polymorphism, stability, and data reproducibility. They are also

fragmento de ADN específico, que es uno de los procedimientos más utilizados en la actualidad en las prácticas de genética molecular. La PCR es la técnica más utilizada para el estudio de marcadores tipo microsatélites y muchos estudios de genética de poblaciones se realizan utilizándolos. Estos marcadores están constituidos por segmentos de ADN entre dos y siete pares de bases repetidas una a continuación de la otra, por lo que son llamados di, tri o tetranucleótidas siendo una fuente de información de gran valor debido a su abundancia a lo largo de los genomas eucariotes, elevado polimorfismo, estabilidad, reproducibilidad de los datos obtenidos y amplificación relativamente sencilla al generar un patrón de fragmentos de ADN, específicos para cada individuo, que está integrado por las combinaciones provenientes del linaje paterno y materno⁽⁶⁾. Este estudio se realizó para evaluar el grado de diferenciación genética del cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica*) en Córdoba, Colombia, basado en las variaciones de los microsatélites utilizados.

Las muestras utilizadas en el estudio se recogieron en 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), En Cereté se tomó una muestra de cerdos comerciales de una granja porcícola, que incluían cruces entre Landrace, Yorkshire, Large White, Duroc y Pietrain (Cuadro 1). Se recolectaron muestras de pelo de 191 ejemplares. Para determinar el tamaño de la muestra en cada población, se aplicaron criterios sugeridos por

relatively simple to amplify to generate DNA fragment patterns specific to individuals that include combinations from the paternal and maternal lines⁽⁶⁾.

Very little data are available on pig populations in the Caribbean region of Colombia, particularly the domestic pig populations of Cordoba Department. Identifying the genetic status of these populations requires studying genetic variation within them. The present study objective was to evaluate degree of genetic differentiation among domestic pig populations in the towns of Momil, Cereté and Tierralta, Cordoba Department, Colombia, based on variation in microsatellites. Identification of genetic variability is vital to developing production strategies, and genetic conservation and improvement programs⁽⁴⁾, as well as evaluating the genetic heritage of the region's pig populations.

Hair samples were collected from pigs grown on family farms in the towns of Momil (9°14'16" N; 75°36'30" W), Cereté (08°53'08" N; 75°47'48" W) and Tierralta (08°10'34" N; 76°03'46" W), Cordoba Department. Samples were also collected from pigs at a commercial pig farm using crosses between Landrace, Yorkshire, Large White, Duroc and Pietrain (Table 1). Based on previous studies^(7,8), a minimum sample size per population of more than 30 individuals was applied, resulting in a total of 191 hair samples. Animals at the family farms had no genealogical data.

Cuadro 1. Características del material estudiado

Table 1. Sample location, size and collection date

Sample location	Momil	Cereté	Tierralta
Coordinates	9° 14' 16" N 75° 36' 30" W	08° 53' 08" N 75° 47' 48" W	8 ° 10 '34 " N 76 ° 03' 46" W
Sample size, n	45	92	54
Collection date (month-year)	03-2013	03-2013	05-2013

Cuadro 2. Variabilidad genética en muestras de cerdo doméstico de Córdoba en los loci analizados

Table 2. Genetic variability in analyzed loci of hair samples from domestic pigs in Cordoba Department, Colombia

Sample indices	SW489	SW2519	SW780	SW2083	SW2019	SW2410	S0215	SW72	SW911	IFNG	SW1041	SWR345	TNFB	S0385	SW787	S0090	SW1083	SW957	SW2427	SW1067	
MOMIL																					
n	45	45	45	45	44	45	44	45	45	44	44	45	45	45	45	45	44	45	45	45	
A	5	9	4	5	2	4	7	5	4	5	3	4	8	5	3	5	4	13	6	2	
H _E	0.521	0.732	0.531	0.349	0.350	0.599	0.287	0.657	0.567	0.939	0.543	0.266	0.614	0.547	0.314	0.634	0.565	0.935	0.745	0.056	
H _O	0.624	0.842	0.477	0.264	0.354	0.587	0.758	0.715	0.558	0.249	0.623	0.267	0.716	0.711	0.230	0.611	0.433	0.714	0.701	0.002	
PIC	0.52	0.72	0.53	0.53	0.33	0.50	0.70	0.59	0.51	0.55	0.624	0.52	0.70	0.56	0.21	0.57	0.52	0.74	0.61	0.17	
p	0.52	0.01*	0.68	0.51	0.75	0.34	0.02*	0.63	0.87	0.22	0.07	0.07	0.73	0.15	0.008*	0.34	0.55	0.13	0.74	0.01*	
CERETE																					
n	62	62	62	61	61	62	62	62	62	61	62	62	62	62	62	61	61	62	62	62	
A	7	8	5	6	4	6	8	7	5	15	4	5	12	6	5	6	5	10	7	3	
H _E	0.481	0.783	0.587	0.256	0.150	0.734	0.189	0.750	0.487	0.896	0.578	0.345	0.743	0.616	0.233	0.602	0.486	0.842	0.534	0.256	
H _O	0.645	0.816	0.575	0.364	0.254	0.657	0.656	0.674	0.658	0.388	0.453	0.316	0.745	0.678	0.349	0.588	0.534	0.791	0.687	0.122	
PIC	0.52	0.70	0.51	0.53	0.51	0.45	0.74	0.51	0.51	0.83	0.53	0.45	0.68	0.53	0.21	0.61	0.55	0.52	0.51	0.19	
p	0.53	0.13	0.31	0.34	0.77	0.56	0.004*	0.43	0.74	0.32	0.04*	0.09	0.42	0.22	0.02*	0.005*	0.49	0.13	0.74	0.01*	
TIERRALTA																					
n	54	54	54	53	53	54	54	54	54	53	53	53	54	54	54	54	54	54	54	54	
A	8	8	6	6	4	3	8	9	5	14	5	3	13	8	5	7	5	9	5	4	
H _E	0.512	0.368	0.716	0.643	0.105	0.457	0.792	0.508	0.725	0.917	0.790	0.393	0.586	0.566	0.524	0.246	0.555	0.737	0.380	0.200	
H _O	0.596	0.688	0.556	0.434	0.234	0.787	0.667	0.437	0.685	0.329	0.375	0.653	0.567	0.786	0.440	0.458	0.425	0.147	0.767	0.212	
PIC	0.53	0.69	0.56	0.54	0.32	0.39	0.80	0.54	0.80	0.74	0.64	0.48	0.7	0.58	0.65	0.53	0.63	0.63	0.59	0.23	
p	0.33	0.36	0.32	0.42	0.43	0.11	0.01*	0.24	0.64	0.34	0.04*	0.17	0.12	0.43	0.34	0.006*	0.18	0.11	0.74	0.02*	

n= sample size; A= number of alleles; H_E= expected heterozygosity; H_O= observed heterozygosity; PIC= Polymorphic Information Content; and p= Hardy-Weinberg equilibrium probability.

*Markers not in Hardy-Weinberg equilibrium (P<0.05).

algunos autores^(7,8), quienes consideran que un tamaño mínimo de la muestra debe ser mayor a 30 individuos.

Por tratarse de animales provenientes de explotaciones familiares, no se cuenta con datos de genealogía. De cada una de las muestras se extrajo el ADN mediante una modificación al protocolo descrito por Sambrook y Russell⁽⁹⁾. Los 20 microsatélites utilizados para el estudio pertenecen al panel de los recomendados por la FAO/ ISAG (International Society of Animal Genetics)⁽¹⁰⁾ para estudios de biodiversidad porcina (Cuadro 2). Una vez extraído el ADN se amplificó cada marcador mediante la técnica del PCR (Polimerase Chain Reaction) en las 191 muestras recolectadas, de acuerdo con las condiciones de PCR en un volumen final de 25 µl que incluyó 10 µl de dNTPs 100 µM, 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.

Extraction of DNA from the hair samples was done using the protocol of Sambrook and Russell⁽⁹⁾, with some modifications. The twenty microsatellites used in the study belong to the microsatellite panel recommended by the FAO/ ISAG (International Society of Animal Genetics)⁽¹⁰⁾ for porcine biodiversity studies (Table 2). Each marker in the DNA extracted from the 191 samples was amplified using PCR. Amplification conditions were a final volume of 25 µl containing 10 µl 100 µM dNTPs; 2.5 µl 10X buffer; 1.0 µl 25 mM MgCl₂; 3.0 µl primers specific to each 10 pmol locus; 0.3 µl Taq DNA polymerase at a 1 U/µl concentration; 4.0 µl genomic DNA at a 50 ng/µl concentration; and 4.2 µl sterilized double-distilled water. The PCR reaction was done in a thermocycler (Mycycler; Bio-Rad®; Hercules, CA, USA) in the following sequence: 95 °C for 5 min; 35 cycles of 94 °C for 30 s; optimum marker temperature (56, 58, 60 or 62 °C) for 30 s; 72 °C for 50 s; and 72 °C for 5 min. Fragment separation was done with polyacrylamide gel electrophoresis using an automatic sequencer (ABI 377XL; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Fragment

La reacción de PCR se realizó en un termociclador Mycycler Bio-Rad® y consistió de una fase de desnaturalización de 95 °C durante 5 min, seguida de 35 ciclos de 30 seg de desnaturalización a 94 °C, 30 seg a la temperatura óptima de anillamiento (56°, 58°, 60° y 62 °C dependiendo del marcador) y 50 seg de extensión a 72 °C. Finalmente, una fase de extensión de 5 min 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). Para el análisis de fragmentos y la tipificación alélica se utilizaron respectivamente los programas Genescan Analysis® 3.1.2 y Genotyper® 2.5.2. Para cada marcador y por población se estimó el número de alelos; además se midió la diversidad genética en las poblaciones estudiadas, identificando por marcador estados de homocigosidad y heterocigosidad, luego se evaluaron parámetros de heterocigosidad esperada y heterocigosidad observada por marcador y por población, utilizando el programa GDA 1.0⁽¹¹⁾. Para determinar desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg y su nivel de significancia se utilizó el Test de Guo y Thomson, implementado en el paquete estadístico GENEPOP 3.4⁽¹²⁾.

Para determinar la estructura genética en las muestras de cerdo doméstico, se evaluó el índice F_{ST} asumiendo el modelo de alelos infinitos (IAM) y la Identidad genética de Nei calculados para cada par de poblaciones, mediante el software GENEPOP 3.4⁽¹²⁾.

Los valores del contenido de información polimórfica (PIC, por sus siglas en inglés) se obtuvieron a partir de las frecuencias alélicas para un n=191, atendiendo a la ecuación:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i}^k 2 P_i^2 P_j^2$$

Siendo k el número de alelos, P_i y P_j las frecuencias alélicas del iésimo y jésimo alelo, con el fin de establecer si los marcadores

analysis was done with the Genescan Analysis® 3.1.2 program, and allele identification with the Genotyper® 2.5.2 program. Allele count was estimated for each marker and by population. Genetic diversity was measured in the studied populations, identifying homozygosity and heterozygosity per marker. Expected and observed heterozygosity were then evaluated by marker and population using the GDA 1.0 program⁽¹¹⁾.

A Guo and Thomson test was applied to identify deviations in Hardy-Weinberg (H-W) equilibrium and their significance levels. Genetic structure in the samples was identified by calculating the F_{ST} index, assuming the infinite allele model (IAM), and the Nei's genetic identity for each population. All analyses were done with the GENEPOP 3.4 statistical package⁽¹²⁾.

Polymorphic information content (PIC) values were calculated from the allelic frequencies for n=191, using the equation:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i}^k 2 P_i^2 P_j^2$$

Where k is the number of alleles; and P_i and P_j are the allelic frequencies of the i-th and j-th allele, respectively. This was done to determine if the selected markers provided sufficient information to identify genetic variability in the studied pig populations. Each microsatellite's PIC was measured with the CERVUS v. 3.0.3 program⁽¹³⁾.

Phylogenetic reconstruction was done based on genetic distance⁽¹⁴⁾ and the UPGMA methodology run with the MEGA 5.0 program⁽¹⁵⁾. Phylogenetic relationship validity was estimated with 1,000 bootstrap replications.

All the examined microsatellite markers were polymorphic. The number of alleles per locus varied from 2 (*SW2019*) to 15 (*IFNG*), with an average of 10.3 alleles (A). These values are within the range previously reported in genetic diversity studies of pigs: 13.31 to 24.8

seleccionados proporcionan información suficiente para describir la variabilidad genética en las poblaciones de cerdo estudiadas. El PIC de cada microsatélite se midió mediante el programa CERVUS v. 3.0.3⁽¹³⁾.

La reconstrucción filogenética se efectuó a partir de la distancia genética⁽¹⁴⁾ y la metodología UPGMA implementado en el programa MEGA 5.0⁽¹⁵⁾ La validez de la relación filogenética se estimó mediante un bootstrap de 1,000 repeticiones.

Todos los marcadores microsatélites examinados fueron polimórficos. El número de alelo por locus varió de 2 (*SW2019*) a 15 (*IFNG*), con un promedio en 10.3 alelos (*A*). Otros estudios de diversidad genética en cerdos reportan valores mayores y menores así: entre 13.31 y 24.8 alelos^(16,17) y entre 2.0 y 3.9 alelos⁽¹⁸⁾.

El número total de diferentes alelos identificados fue 207, el nivel de variación más alta se observó en el *IFNG* (*A*= 11.3, *H_e*= 0.917) y *SW957* (*A*= 10.6; *H_e*= 0.838). Los loci menos polimórficos fueron *SW2019* (*A*= 3.3; *H_e*= 0.201) y *SW1067* (*A*= 3.0; *H_e*= 0.170). Este valor es similar a los encontrados en cerdos criollos de Uruguay⁽¹⁹⁾, y en cerdos mamellados⁽²⁰⁾. La heterocigosidad hallada en el presente estudio también se asemeja a las cifras encontradas en el Criollo Cubano, el Pelón Mexicano y los criollos argentinos^(21,22,23). La heterocigosidad, refleja el polimorfismo detectado para cada marcador en las poblaciones estudiadas, y su valor también depende del número de alelos y de sus frecuencias. A partir de datos obtenidos como número de alelos y heterocigosidad, puede concluirse que la variabilidad de los cerdos de Córdoba es elevada, y que el panel de microsatélites, el cual ya ha sido probado en numerosas estudios, ha sido apropiado para estudiar la diversidad genética en este recurso zoogenético.

El PIC obtenido (Cuadro 2) varió entre 0.17 (*SW1067*) y 0.83 (*IFNG*), correspondiendo estos valores con los marcadores que presentaron el

alelos^(16,17) and 2.0 to 3.9 alleles⁽¹⁸⁾. The total number of identified alleles was 207, with the highest variation observed in *IFNG* (*A*=11.3, *H_e*= 0.917) and *SW957* (*A*= 10.6; *H_e*= 0.838). The loci with the lowest polymorphism were *SW2019* (*A*= 3.3; *H_e*= 0.201) and *SW1067* (*A*= 3.0; *H_e*= 0.170), values similar to those reported for criollo (local) pigs⁽¹⁹⁾, and wattled pigs in Uruguay⁽²⁰⁾. Heterozygosity in the present results was near that reported for the Cuban criollo, Mexican hairless and Argentine criollo pig breeds^(21,22,23). This property reflects the polymorphisms detected for each marker in the studied populations, and its value depends on the number of alleles and their frequencies. Both the allele and heterozygosity data suggest that Córdoba's pig populations are highly genetically variable. In addition, they indicate that the microsatellite panel, which has been tested in a number of studies, is appropriate for studying genetic diversity in this zoogenetic resource.

Values for PIC varied from 0.17 (*SW1067*) to 0.83 (*IFNG*), which correspond to the markers with the lowest and highest number of alleles, respectively. A PIC's informativeness is based on the classification of Botstein *et al*⁽²⁴⁾: values >0.5 are highly informative; those between 0.25 and 0.50 are moderately informative; and those <0.25 are minimally informative. Only 15 of the tested markers can be considered highly informative (PIC>0.5), and therefore these microsatellites are very useful in identifying genetic variability in domestic pig populations in Córdoba. Three markers were moderately informative (PIC <0.50>0.25), and two were minimally so (PIC<0.25). Compared to previous reports, the average PIC value observed here is lower than in one report⁽²⁵⁾, but similar to other studies^(17,20). Of the analyzed microsatellites, 80 % were found to be in genetic H-W equilibrium. This high percentage suggests that the allelic frequencies of the sampled animals tend to group, forming homogeneous populations (Table 2). Grouping may indicate that mating within the population occurs randomly (in terms of the studied markers), or

menor y el mayor número de alelos. Sólo 15 marcadores pueden ser considerados muy informativos ($PIC > 0.5$), siendo dichos microsatélites muy demostrativos a la hora de detectar variabilidad genética en la población de cerdo doméstico en las poblaciones de Córdoba, 3 medianamente informativo ($PIC > 0.25$) y 2 poco informativos ($PIC < 0.25$), según la clasificación de Botstein *et al*(24), en la cual marcadores con valores de PIC superiores a 0.5 son considerados muy informativos, valores entre 0.25 y 0.50 medianamente informativos y valores inferiores a 0.25, son poco informativos. En comparación con datos previamente publicados, se encontró que el valor medio de PIC, resultó menor a lo reportado por Vicente *et al*(25), y similar a los reportados por otros investigadores(17,20). Del total de microsatélites analizados en cada población, el 80 % se encontraron en equilibrio genético de Hardy-Weinberg; el elevado porcentaje de loci en equilibrio supone que las frecuencias alélicas de los individuos analizados se agrupan conformando poblaciones homogéneas (Cuadro 2). En un principio esto podría mostrar que los apareamientos dentro de la población se produjeron de forma aleatoria (en lo referente a los marcadores considerados) o que, si hay nuevos animales que se han sumado recientemente a esta población, estos provienen de otras poblaciones con el mismo acervo genético con respecto a los individuos de la población analizada(26). Se hallaron desviaciones significativas del equilibrio Hardy-Weinberg

that any new animals added to the population come from populations with the same genetic heritage as the sampled animals(26). Significant deviations ($P < 0.05$) in H-W equilibrium were observed in 20 % of the studied loci. Deviations can be expected if individual populations are structured in subpopulations (the Wahlund effect). Marked differences would therefore exist between proximate pig populations in the markers in H-W disequilibrium, but not in the other markers. If the differences between these markers have not been eliminated, it indicates limited genetic flow between nearby populations, an aspect not shown by the other markers. Lack of H-W equilibrium can also be caused by endogamy events in general populations(27). However, endogamy affects the entire genome, meaning that if this phenomenon were the most salient, all the markers used in the present study would exhibit an excess of homozygotes; this did not occur in the present case. Other possible scenarios are that the loci in disequilibrium are linked to genes subject to natural selection that acts differentially at the micro- and macrospatial levels, or that the founder effect (few sires with many progeny) has occurred.

Interpopulational genetic relationships were quantified using Nei's genetic identity(14). Values ranged from a high of 0.627 between the populations at Momil and Cereté, indicating greater genetic similarity, to a low of 0.350 between Momil and the commercially-farmed pigs.

Cuadro 3. Valores de las estimaciones de F_{ST} entre pares de poblaciones (por debajo de la diagonal) y valores de la identidad genética de Nei (arriba de la diagonal)

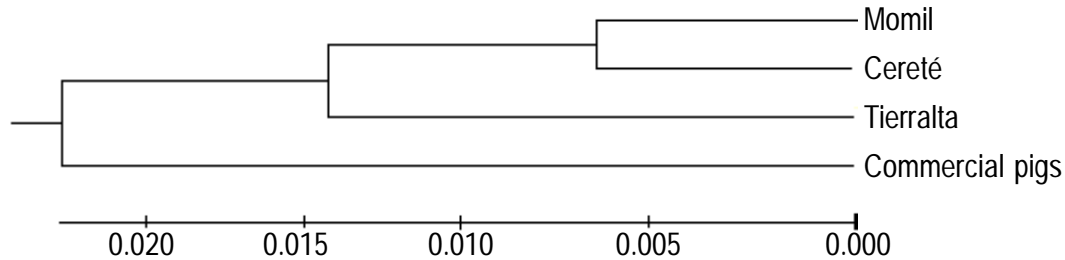
Table 3. Estimated F_{ST} values between population pairs (below diagonal) and Nei's genetic identity values (above diagonal)

Pig populations	Momil	Cereté	Tierralta	Commercial pigs
Momil		0.6279	0.4774	0.3501
Cereté	0.0769 *		0.5184	0.3622
Tierralta	0.1101 *	0.0987 *		0.4015
Commercial pigs	0.2267 *	0.1604 *	0.2045*	

* Significant after Bonferroni fit ($P < 0.0001$).

Figura 1. Dendrograma basado en las distancias genéticas entre las poblaciones estudiadas en Córdoba, Colombia, obtenido bajo el método UPGMA

Figure 1. Dendrogram based on genetic distances between studied pig populations in Cordoba, Colombia, generated using UPGMA method



($P < 0.05$) en el 20 % del total de loci estudiados en cada población. Se esperan desviaciones con respecto al equilibrio H-W, si las poblaciones individuales están estructuradas en subpoblaciones (efecto Wahlund), 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). La falta de equilibrio H-W, también podría ser el resultado de eventos de endogamia ocurridos en las poblaciones en general⁽²⁷⁾. 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, lo que no ocurre en este caso. También puede estar ocurriendo que los loci en desequilibrio, están ligados a genes sometidos a selección natural que actúen diferencialmente a nivel micro o macro-espacial, o por efecto fundador (llegaron pocos verracos que se multiplicaron mucho).

Para establecer las relaciones genéticas entre poblaciones se midió la identidad genética de Nei⁽¹⁴⁾, cuyos valores oscilaron entre 0.350 y 0.627. La mayor identidad genética se observó entre las poblaciones de Momil y Cereté (0.627), lo cual muestra la mayor similitud genética entre

Comparisons made to quantify interpopulational genetic differentiation (F_{ST}) showed Momil and Cereté to have low but significant differentiation ($F_{ST} = 0.076$, $P = 0.016$). Values, and differentiation, were slightly higher between Cereté and Tierralta ($F_{ST} = 0.098$, $P = 0.016$), and much higher between Momil and the commercial pigs ($F_{ST} = 0.226$, $P = 0.016$). All F_{ST} estimates were statistically significant (Table 3), and suggested moderate genetic flow in the studied populations. Based on the loci, the F_{ST} values indicated that between 7 and 22 % of total genetic variation in the studied domestic pig populations was explained by interpopulational differences, while between 3 and 78 % corresponded to intrapopulational differences.

The genetic differences in the dendrogram (Figure 1) show Momil and Cereté to be equally distant from Tierralta. The population of commercial pigs is the furthest from the three sampled local populations.

Studies using θ (a F_{ST} analogue) have reported a value of 13 % for varieties of Iberian pig, 27 % for European breeds⁽²⁸⁾, and 18 % in Chinese breeds⁽²⁹⁾. Reported genetic differentiation values are lower among local breeds in the same region; for instance, among local breeds in dry and humid regions ($F_{ST} = 4.4$ %), and among Cuban criollos ($F_{ST} = 0.12$ %)^(21,23).

The expected heterozygosity levels in the present study indicate that domestic local pig populations in Cordoba Department, Colombia,

ellas, y la menor identidad se dio entre Momil y cerdos comerciales (0.350), lo cual indica su menor parecido genético. El nivel de diferenciación genética realizado mediante comparaciones entre las poblaciones analizadas (F_{ST}) varió entre 0.076 y 0.226 (Cuadro 3), revelando una baja pero significativa diferenciación genética entre las poblaciones Momil y Cereté ($F_{ST}= 0.076$, $P=0.016$), un poco mayor entre las poblaciones de Cereté y Tierralta ($F_{ST}= 0.098$, $P=0.016$) y la mayor diferenciación se dio entre Momil y cerdos comerciales ($F_{ST}= 0.226$, $P=0.016$) Todas las estimaciones F_{ST} fueron estadísticamente significativas. Los valores de F_{ST} sugirieron flujo genético moderado en las poblaciones estudiadas. Los valores de F_{ST} a través de los loci indicaron que aproximadamente entre el 22 y 7 % de la variación genética total en cerdo doméstico, fue explicada por las diferencias al comparar las poblaciones entre sí y el 78 y 93 % correspondieron a diferencias intrapoblacionales.

Atendiendo a los valores de distancia genética reportados en el dendrograma (Figura 1), puede apreciarse que las poblaciones de Momil y Cereté se ubicaron como las menos lejanas a las cuales se asocia la población de Tierralta, Por otro lado, la muestra de cerdos comerciales se mantuvo alejada de las demás. Estudios realizados en variedades del cerdo Ibérico, se obtuvo un θ (análogo F_{ST}) del 13 %, mientras para las razas porcinas europeas fue de 27 %⁽²⁸⁾ y en razas chinas de 18 %⁽²⁹⁾. Entre razas criollas de la misma región, se han obtenido valores menores de diferenciación genética, tales como los criollos de la región seca y los de la región húmeda ($F_{ST}= 4.4$ %), y entre los criollos cubanos ($F_{ST}= 0.12$ %)^(21,23).

Teniendo en cuenta los niveles de heterocigosidad esperada encontrados en el presente estudio, podemos concluir que el cerdo doméstico (*Sus scrofa domestica*) en Córdoba-Colombia, muestra un alto grado de variabilidad genética. De igual manera y de acuerdo a la identidad genética de Nei, el estadístico F_{ST} y la distancia genética de Nei, podemos concluir que existe

exhibit high genetic variability. Values for Nei's genetic identity, F_{ST} and Nei's genetic distance suggest genetic proximity between the Momil, Cereté and Tierralta populations. Given the high percentage of markers with high PIC values in this study, this technique can be applied in other studies within this species, such as genealogical research and assignment of individuals to populations.

End of english version

cercanía genética entre las poblaciones de Momil, Cereté y Tierralta. Por último, esta técnica se puede implementar para otros estudios dentro de la raza, como la investigación genealógica y la asignación de individuos a poblaciones, teniendo en cuenta el alto porcentaje de marcadores con un PIC elevado.

LITERATURA CITADA

1. Peña M, Mora C. Historia de Colombia. Bogotá: Editorial Norma. 1977.
2. Cabeza M. Estudio comparativo de la raza nativa de cerdo Zungo con razas mejoradas [tesis maestría]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia-ICA; 1976.
3. Oslinger G. Caracterización Molecular de Cerdos Criollos Colombianos mediante la técnica molecular RAMs (Random Amplified Microsatellites) [tesis maestría]. Palmira, Valle: Universidad Nacional de Colombia; 2003.
4. Pimentel L, Tambasco-Talhari D, Pozzi A, Lehmann L, Correia L. Genetic characterization of Aberdeen Angus cattle using molecular markers. *Genet Mol Biol* 2003;26(2):133-137.
5. Mullis K, Faloona F. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase catalyzed chain reaction. *Methods Enzymology* 1987;155:335-350.
6. Sun HS, Barendse W, Kispatrik BM. Rapid communication: UWCA46, a polymorphic bovine microsatellite marker [abstract]. *J Anim Sci* 1995;73(5):1530.
7. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 1978;89:583-590.
8. Nei M, Roychoudhury AK. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics* 1974;76:379-390.
9. Sambrook J, Russell RW. Molecular cloning: A laboratory manual, 3rd ed. Cold Spring, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.

10. FAO. Secondary Guidelines for development of natural farm animal genetic resources management plans: Measurement of domestic animal diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers. FAO ed., Roma, Italy. 2004.
11. Lewis PO, Zaykin D. Genetic data analysis: computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0. 2001.
12. Raymond M, Rousset F. GENEPOP 3.4: Population Genetics Software for exact tests and ecumenicism, *J Hered* 1995;86:248-249.
13. 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.
14. Nei, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Nat Acad Sci USA* 1973;70:3321-3323.
15. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 2011;28(10):2731-2739.
16. Gama L, Martínez AM, Carolino I, Landi V, Delgado JV, Vicente AA, *et al.* Genetic structure, relationships and admixture with wild relatives in native pig breeds from Iberia and its islands. *Genet Sel Evol* 2013;45:18-32.
17. Li SJ, Yang SI, Yang S, Zhao S, Fan B, Yu M. Genetic diversity analyses of 10 indigenous Chinese pig populations based on 20 microsatellites. *J Anim Sci* 2004;82:368-374.
18. Chang W, Chu H, Jiang Y, Li S, Wang Y, Chen C. Genetic variation and phylogenetics of Lanyu and exotic pig breeds in Taiwan analyzed by nineteen microsatellite markers. *J Anim Sci* 2009;87:1-8.
19. Kelly L, Clop A, Vadell A, Nicolini P, Monteverde S, Amills M, Sanchez A. El cerdo Pampa-Rocha como recurso zogenético en Uruguay. *Marcadores moleculares. Veterinaria (Montevideo)* 2004;39(155-156):15-16.
20. Castro G. Situación de los recursos genéticos porcinos locales en Uruguay. *Arch Zootec* 2007;56(1):783-788.
21. Pérez-Pineda E. Caracterización genética del cerdo Criollo Cubano utilizando marcadores moleculares [tesis doctorado]. Córdoba, España: Universidad de Córdoba; 2005.
22. Canul M, Sierra A, Martínez A, Ortiz O, Delgado JV, Vega-Pla J, Pérez G. Caracterización genética del cerdo pelón mexicano mediante marcadores moleculares. *Arch Zootec* 2005;54:267-272.
23. Revidatti MA. Caracterización de cerdos criollos del Nordeste Argentino [tesis doctorado]. Córdoba, España: Universidad de Córdoba; 2009.
24. Botstein D, White RI, Skolnick M, Davis R. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet* 1980;32:314-331.
25. Vicente A, Carolino M, Sousa M, Ginja C, Silva F, Martínez A, *et al.* Genetic diversity in native and commercial breeds of pigs in Portugal assessed by microsatellites. *J Anim Sci* 2008;86:2496-2507.
26. Cockerham, CC. Analyses of gene frequencies. *Genetics* 1973;74:679-700.
27. Allendorf F, Luikart G. Conservation and the genetics of populations. Massachusetts: Blackwell; 2007.
28. Laval G, Lannuccelli N, Legault C, Milan D, Groenen M, Giuffra E, *et al.* Genetic diversity of eleven European pig breeds. *Gen Sel Evol* 2000;32:187-203.
29. Fan B, Wang Z, Li X, Zhao B, Liu S, Zhao M, Yu M, Li S, Chen T, Xiong K Genetic variation analysis within and among Chinese indigenous swine populations using microsatellite markers. *Anim Genet* 2002;33:422-427.