

**XVI FORUM DE CIENCIA Y TECNICA  
UNIVERSIDAD DE GRANMA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**



**TÍTULO:**

Caracterización genética del cerdo Criollo Cubano utilizando microsatélites, una contribución a la conservación de la diversidad genética de la raza.

**AUTOR:** Eliecer Pérez Pineda (CI: 62072210009)

**COAUTORES:** - Francisco Velázquez Rodríguez  
- Denia segura Arce  
- Luis Aguilar Guerrero

**CENTRO DE PROCEDENCIA O DEL AUTOR PRINCIPAL:**

Universidad de Granma

**MUNICIPIO:** Bayamo.

**PROVINCIA:** Granma.

**AÑO DE TERMINACIÓN DEL TRABAJO:** 2005.

**AÑO DE PRESENTACIÓN DEL TRABAJO POR PRIMERA VEZ:** 2006.

## INDICE

Resumen -----	3
I. Introducción -----	4
II. Desarrollo -----	5
II.1. Material animal -----	5
II.2. Métodos utilizados -----	5
II.3. Tratamiento estadístico -----	11
II.4. Principales resultados obtenidos -----	14
III. Valoración económica y aporte social -----	20
IV. Soluciones que aporta el trabajo -----	23
V. Conclusiones y recomendaciones -----	24
VI. Bibliografía -----	25
VII. Anexos -----	28
VIII. Datos de los autores -----	31

## RESUMEN

Se caracteriza el cerdo Criollo Cubano y estudia la estructura genética de la población nacional, utilizando 20 microsatélites recomendados por la FAO y la Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG) para estudios de diversidad de la especie porcina. Con los análisis se pudo determinar que: los 20 marcadores moleculares analizados resultaron ser polimórficos; más del 60 % de los individuos de la población son heterocigotos; la raza no está afectada por la consanguinidad; no existen diferencias genéticas entre los tipos morfológicos Entrepelados y lampiños; la raza se encuentra estrechamente relacionada con las variedades más ancestrales del cerdo Ibérico, y además se detectó que la raza posee una influencia reciente desde las razas Hampshire y Duroc. Estos resultados permiten definir que la raza Criollo Cubano posee una adecuada diversidad genética, a la vez que constituyen importantes contribuciones prácticas al perfeccionamiento de la Estrategia Nacional para el uso y la conservación de la misma dentro del desarrollo rural sostenible del país, la cercanía genética con la raza Ibérica permite inferir que la el Criollo Cubano presentas potencialidades para producir jamón y otros productos de alta calidad como el cerdo Ibérico. Por otro lado el trabajo representa un importante aporte metodológico, teniendo en cuenta que por primera vez se realiza en Cuba la caracterización genética de una raza animal utilizando marcadores moleculares, aspecto esencial para la conservación de la biodiversidad de los Recursos Genéticos Animales, en especial cuando se trata de recursos considerados como patrimonio de la nación.

## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas del siglo pasado los grandes cambios económicos y sociales ocurridos, condujeron a que la mayor parte de la producción porcina mundial se apoyase en un número reducido de razas selectas, explotadas en sistemas de producción con alta tecnificación y altos insumos; muy agresivos para el medio y obviamente insostenibles para los países en desarrollo. En la actualidad asistimos a una gran presión y toma de conciencia a escala internacional, a favor de la conservación de los recursos genéticos locales, con vistas a su utilización racional y al reparto equitativo de los beneficios por ellos producidos. Un acontecimiento que marcó pautas en tal sentido fue la Conferencia Mundial sobre Medio Ambiente, celebrada en Río de Janeiro, Brasil, en 1992.

En tal sentido Delgado (2000) planteó, que no es una coincidencia que los recursos genéticos locales, ligados por siglos a unos medios ambiente concretos, sean los más cualificados para aportar a sus países unas de las mejores posibilidades para conseguir un desarrollo económico sostenido y sostenible, asegurando el arraigo de los pueblos a su tierra, evitando la transculturación y la implantación de sistemas foráneos, generalmente agresivos con el medio, exigentes de altas tecnologías importadas y modificadores de las más ancestrales tradiciones.

El cerdo Criollo Cubano, llegado a la isla desde la península Ibérica con las primeras expediciones de los conquistadores españoles, lleva más de 400 años de probado aporte de riquezas, está muy bien adaptado a nuestras condiciones agroecológicas, forma parte ya no sólo de la alimentación tradicional del campesino y pueblo cubanos, sino que está integrado completamente a su historia, su cultura y su forma de vida.

El informe del país sobre la Situación de los Recursos Zoogenéticos (2003), plantea que aproximadamente el 50% de la masa porcina cubana es criollo y mestizos criollo, y reconoce que existe la tendencia a cruzar los animales de este genotipo con razas especializadas.

La FAO (1998) propone cuatro niveles de actuación para planificar una estrategia de conservación de un Recurso Genético:

- 1ro. Realizar un inventario nacional de los recursos animales.
- 2do. Control del estado conjunto de los recursos genéticos animales.
- 3ro. Conocimiento genético y económico de las cualidades únicas de las razas.
- 4to. Descripción molecular comparativa mediante marcadores moleculares para establecer qué razas poseen una diversidad genética significativa para dirigir mejor las acciones de conservación.

Este último nivel de actuación constituye el fundamento esencial de este estudio, con el cual se pretende aportar valiosa información sobre la estructura genética actual de la población del cerdo Criollo Cubano, obtenida de la tipificación con marcadores moleculares, concretamente microsatélites, propuestos por la FAO y la ISAG para estudios de diversidad genética en la especie porcina.

El objetivo esencial del estudio es determinar la diversidad genética el cerdo Criollo Cubano utilizando marcadores moleculares, y determinar sus relaciones filogenéticas con otras razas, como contribución a su conservación y mejora genética.

## DESARROLLO

### **Material animal**

Se realizó un cuidadoso muestreo de los dos tipos de cerdos Criollo Cubano, atendiendo a la presencia de mayor o menor cantidad de pelo cubriendo su cuerpo, Entrepelado y Lampiño respectivamente. Se seleccionaron 58 animales de la variedad Entrepelado y 35 de la variedad Lampiño. También se tomaron muestras de animales que presentaban Mamelas y Sindactilia o Casco de mulo.

Fueron incorporados al muestreo 8 animales pertenecientes a la raza Duroc Jersey y 12 pertenecientes a la raza Hampshire. por la razón de ser estas razas las que mayormente han participado en los cruzamientos con el cerdo Criollo Cubano en las últimas décadas. El muestreo se realizó en diferentes explotaciones, fincas, CCS, CPA, de varias provincias y en centros genéticos de Camaguey, Villa Clara, La Habana, entre otros lugares.

### **Obtención de las muestras**

Se recolectaron muestras de pelo de cada animal, por la facilidad de transporte y los escasos requerimientos de conservación. Las mismas se conservaron en bolsos de polietileno individuales, donde se conservan bien a temperatura ambiente. En la mayoría de los casos de animales que proceden del sector campesino no se tienen datos de la genealogía, pero sí de los que proceden de los Centros Genéticos.

### **MÉTODOS UTILIZADOS**

Las condiciones de extracción de DNA a partir de muestras de pelo se encuentran recogidas en el Protocolo 1.

---

*Protocolo 1. Extracción de DNA de muestras de pelo.*

---

#### **MATERIAL**

- TE: Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM pH=8
- Tampón K de extracción: 40 ml de Tris-HCl 1M (pH=8.5), 20ml de NaCl 2.5M, 10 ml de EDTA 0.5M, 10ml de SDS al 10% y H<sub>2</sub>O hasta 200 ml.
- Acetato Sódico 3M pH=5.2
- Isopropanol
- Etanol al 70%
- Muestra de pelo con raíz

#### **MÉTODO**

- Lavar 10 pelos con raíz de cada animal con agua bidestilada y después con etanol 100%
  - Dejar secar
  - Cortar las raíces de los pelos con unas tijeras esterilizadas con alcohol e introducirlos en microtubos
  - Añadir 300 µl de tampón de extracción
  - Triturar las raíces con un émbolo
  - Añadir 150 µl de acetato Sódico 3M pH=5.2
  - Colocar los microtubos en el congelador (-20 °C) al menos durante 20 minutos
  - Centrifugar durante 10 minutos a 13.000 rpm
  - Recoger sobrenadante y ponerlo en otro microtubo de 1.5 ml. Desechar precipitado.
  - Añadir igual volumen al extraído de Isopropanol
  - Colocar en el congelador (-20 °C) durante al menos 20 minutos
  - Centrifugar durante 30 minutos a 13.000 rpm
  - Eliminar el sobrenadante
  - Lavar el precipitado con 150 µl de Etanol al 70%
  - Centrifugar durante 5 minutos a 13.000 rpm
  - Elimiar sobrenadante y dejar secar el precipitado al aire o con una bomba de vacío
  - Resuspender el precipitado en 100 µl de TE pH=8
  - Conservar a -20 °C
-

### **Microsatélites caracterizados**

Se estudiaron 20 microsatélites (Tabla 1) seleccionados y recomendados por el comité de expertos de la FAO/ISAG (Food and Agriculture Organization of the United Nations/ International Society of Animal Genetics) para estudios de diversidad genética (FAO 1998).

Tabla 1.- Microsatélites utilizados

Micro.	Cro.	Fluor.	Cebadores (3'-5'): Directo	Reverso
IGF1	5	6FAM	GCTTGGATGGACCATGTTG	CATATTTTTCTGCATAACTTGAACCT
S0026	16	HEX	AACCTTCCCTTCCCAATCAC	CACAGACTGCTTTTTACTCC
S0068	13	TET	CCTTCAACCTTTGAGCAAGAAC	AGTGGTCTCTCTCCCTCTTGCT
S0090	12	6FAM	CCAAGACTGCCTTGTAGGTGAATA	GCTATCAAGTATTGTACCATTAGG
S0101	7	HEX	GAATGCAAAGAGTTTCTAGGTAGG	GTCTCCCTCACACTTACCGCAG
S0155	1q	6FAM	TGTTCTCTGTTTCTCCTCTGTTTG	AAAGTGGAAAGAGTCAATGGCTAT
S0178	8	TET	TAGCCTGGGAACCTCCACACGCTG	GGCACCAGGAATCTGCAATCCAGT
S0215	13	HEX	TAGGCTCAGACCCTGCTGCAT	TGGGAGGCTGAAGGATTGGGT
S0225	8	HEX	GCTAATGCCAGAGAAATGCAGA	CAGGTGGAAAGAATGGAATGAA
S0226	2q	6FAM	GCACTTTTAACTTTTATGATACTCC	GGTTAACTTTTNNCCCAATACA
S0227	4	HEX	GATCCATTTATAATTTTAGCACAAAGT	GCATGGTGTGATGCTATGTCAAGC
S0228	6	TET	GGCATAGGCTGGCAGCAACA	AGCCCACCTCATCTTATCTACACT
S0386	11	TET	TCCTGGGTCTTATTTTCTA	TTTTTATCTCCAACAGTAT
SW240	2p	6FAM	AGAAATTAGTGCCTCAAATTGG	AAACCATTAAGTCCCTAGCAAA
SW632	7	TET	TGGGTTGAAAGATTTCCCAA	GGAGTCAGTACTTTGGCTTGA
SW72	3p	TET	ATCAGAACAGTGCGCCGT	TTTGAAAATGGGGTGTTC
SW857	14	HEX	TGAGAGGTCAGTTACAGAAGACC	GATCCTCCTCCAAATCCCAT
SW911	9	6FAM	CTCAGTTCTTTGGGACTGAACC	CATCTGTGGAAAAAAAAGCC
SW936	15	6FAM	TCTGGAGCTAGCATAAGTGCC	GTGCAAGTACACATGCAGGG
SW951	10	6FAM	TTTCACAACTCTGGCACCAG	GATCGTGCCCAAATGGAC

Micro: Microsatélite. Cro: Cromosoma. Fluor: Fluorocromo. Los cebadores directos están marcados con los fluorocromos.

### **Amplificación de las secuencias microsatélites**

Los microsatélites se amplificaron mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se diseñaron varias reacciones múltiples para reducir el número de reacciones y los costes de los experimentos. Las condiciones de amplificación se recogen en la tabla 2.

*Tabla 2.- Condiciones de la amplificación*

<i>Micro.</i>	<i>Lote (*)</i>	<i>MgCl<sub>2</sub> (mM)</i>	<i>Tamaño</i>	<i>T.A. (°C)</i>	<i>Múltiplex</i>
<i>S0068</i>	I	2,5	211-260	55	Simple
<i>S0101</i>	I	2,5	197-216	55	M1
<i>S0215</i>	I	2,5	135-169	55	M1
<i>SW911</i>	I	2,5	153-177	55	M1
<i>SW936</i>	I	2,5	80-117	55	M1
<i>SW632</i>	I	2,5	159-180	55	Simple
<i>S0227</i>	II	4	231-256	55	M2
<i>S0225</i>	II	4	170-196	55	M2
<i>S0226</i>	II	4	181-205	55	M2
<i>S0228</i>	II	4	222-249	55	M2
<i>S0090</i>	II	2,5	244-251	55	M3
<i>SW591</i>	II	2,5	125-133	55	M3
<i>S0178</i>	II	2,5	110-124	55	M3
<i>IGF1</i>	III	2,5	197-209	55	Simple
<i>SW72</i>	III	2,5	100-116	55	M4
<i>SW857</i>	III	2,5	144-160	55	M4
<i>S0026</i>	III	2,5	92-106	55	M4
<i>S0155</i>	III	2,5	150-166	55	M4
<i>SW240</i>	III	2,5	96-115	55	M4
<i>S0386</i>	III	3	156-174	48	Simple

Micro: Microsatélite. T.A: Temperatura de acoplamiento de los cebadores. (\*) La FOA/ISAG propone tres lotes de nueve microsatélites cada uno para cargarlos juntos en el mismo gel en el caso de utilizar un secuenciador automático con tecnología de cuatro colores

La amplificación de los microsatélites se realizó utilizando unas condiciones básicas (Protocolo 2).

---

*Protocolo 2. Condiciones básicas de la PCR.*

---

**MATERIAL**

- Tampón PCR 10X: 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl pH=9, 1% Triton X-100
- $MgCl_2$  25 mM
- Didesoxinucleósidos: dATP 25 mM, dCTP 25 mM, dGTP 25 mM, dTTP 25 mM (Pharmacia)
- Cebador Directo 100  $\mu$ M
- Cebador Reverso 100  $\mu$ M
- Taq DNA polimerasa: 5 U/ $\mu$ l (Promega)
- Muestra: DNA obtenido mediante el protocolo 1 o 2
- Aceite mineral (Sigma)
- Agua ultrapura
- Placas de 96 tubos de 0,2 ml Thermo-Fast®96 (Avanced Technologies)
- Termociclador PTC-100 (MJ-Research)

**METODO**

- Dispensar 5  $\mu$ l de muestra en los pocillos de las placas de PCR.
  - Preparar una solución que contenga: agua (4  $\mu$ l por muestra) y los cebadores correspondientes (1  $\mu$ l de cada uno por muestra). Poner 10  $\mu$ l de esta solución en cada pocillo.
  - Cubrir cada pocillo con 40  $\mu$ l de aceite mineral.
  - Calentar a 95 °C durante 10 minutos
  - Preparar una solución que contenga: Tampón PCR 10X (4,6  $\mu$ l por muestra),  $MgCl_2$  la concentración final es la óptima para cada marcador (Tabla 3), dNTPs (0,2  $\mu$ l por muestra), Taq polimerasa (0,2  $\mu$ l por muestra) y el agua necesaria para completar un volumen de 10  $\mu$ l por muestra.
  - Añadir 10  $\mu$ l de la solución de polimerasa en cada pocillo ("Hot Start").
  - Realizar 35 ciclos: 95 °C/30 segundos, T.A./45 segundos (Tabla 2), 72 °C/30 segundos
  - Mantener a 72 °C durante 30 minutos
  - Conservación a -20 °C hasta posterior procesamiento.
- 

**Detección del polimorfismo mediante geles de poliacrilamida**

**Elaboración del gel**

Para la separación por tamaños de los fragmentos obtenidos de la PCR se sometieron estos a una electroforesis en gel de poliacrilamida (Protocolo 3) en un secuenciador automático ABI Prism 377 XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

---

*Protocolo 3. Preparación de un gel de poliacrilamida al 6% con urea 7M.*

---

**MATERIAL**

- Urea
- TBE 5X: Tris base 0,45 M; ácido bórico 0,45 M; EDTA 10 mM, pH=7,5-7,8
- Solución de acrilamida/bisacrilamida 19/1 40% (Amresco)
- Persulfato amónico 10% (p/v)
- Temed
- Agua ultrapura
- Cristales de 28 cm de largo x 22 de ancho
- Separadores de plástico de 0,4 mm de espesor
- Peine de 48 pocillos

**MÉTODO**

- Diluir 16,8 g de urea en 10 ml de agua destilada y 8 ml de TBE 5X.
  - Calentar a 50 °C hasta la disolución completa de la urea
  - Añadir 6 ml de acrilamida/bisacrilamida, enrasar con agua hasta 40 ml y dejar enfriar
  - Añadir 20  $\mu$ l de Temed y 300  $\mu$ l de persulfato amónico
  - Verter el gel entre los cristales evitando formar burbujas y dejar polimerizar unas 2 horas
-



### ***Electroforesis y tipificación de las muestras***

Una vez polimerizado el gel se colocó en el secuenciador automático, se llenaron las cubetas de electroforesis superior e inferior con tampón TBE 1X y se ajustaron las condiciones eléctricas recomendadas por el fabricante del secuenciador.

Las muestras resultantes de la PCR se mezclaron en forma que se pudieran analizar en cada gel los microsatélites de un mismo lote (tabla 3). De esta manera, para analizar los 20 microsatélites en cada muestra, hubo que realizar 3 electroforesis mezclando los productos de la amplificación de las distintas reacciones.

Para cargar el gel se tomaron 1,5 µl de la mezcla correspondiente y se le añadieron 3 µl del tampón de carga (1000 µl de formamida desionizada, 200 µl de azul dextrano y 100 µl del estándar de tamaños Genescan 350-TAMRA). Se desnaturalizaron las muestras calentando a 95 °C durante 3 minutos y se cargaron 3,5 µl de las mismas en el gel. La electroforesis dura unas 2 horas, transcurridas las cuales se procedió a la tipificación de las muestras.

El programa Genescan Analysis v 3.1.2. analizó los datos recogidos del secuenciador automático y proporcionó información del tamaño de los fragmentos estudiados.

El empleo del secuenciador automático y de las aplicaciones informáticas citadas ofrecen la posibilidad de marcar los cebadores de DNA con fluorocromos de tres colores diferentes (azul, verde y amarillo), usando otro fluorocromo de un cuarto color (rojo) para marcar un estándar de tamaños.

Los fluorocromos son sustancias que al ser excitadas por un rayo láser de longitud de onda apropiada, emiten fluorescencia. Cada fluorocromo tiene un máximo de emisión dentro de un rango de longitudes de onda. Mediante un sistema de filtros adecuado, el aparato detecta cada fluorocromo en su rango de longitud de onda óptimo y muestra una señal fluorescente en el color correspondiente. De esta forma se optimiza el rendimiento del gel ya que se pueden cargar en un mismo pocillo varios microsatélites de igual tamaño y marcados con tres fluorocromos distintos. Los fluorocromos utilizados se describen en la Tabla 3.

*Tabla 3.- Fluorocromos empleados para marcar los cebadores y color de emisión con el juego de filtros B en el secuenciador ABI 377 XL.*

<i>Fluor.</i>	<i>Nombre químico</i>	<i>Color de emisión</i>
TET	4,7,2',7'-tetracloro-6-carboxifluoresceína	Verde
6-FAM	6-carboxifluoresceína	Azul
HEX	4,7,2',4',5'7'-hexacloro-6-carboxifluoresceína	Amarillo
TAMRA	N,N,N',N'-tetrametil-6-carboxirodamina	Rojo

Fluor: Fluorocromo

El estándar es una colección de fragmentos de DNA de tamaños conocidos y marcados con un fluorocromo distinto a los usados para marcar los cebadores de los microsatélites. El programa Genescan Analysis construye curvas de regresión en función de los tamaños del estándar y asigna a cada banda problema el tamaño en función de dichas curvas.

El estándar de tamaños utilizado es Genescan 350-TAMRA. Es útil para calcular tamaños de fragmentos entre 35 y 350 nucleótidos. Se prepara comercialmente

mediante la digestión con *Pst* 1 de un plásmido de DNA, seguido de una reacción de ligamiento con un oligodesoxinucleótido marcado con TAMRA y una posterior digestión con *Bst*U 1 que produce fragmentos de tamaño 35, 50, 75, 100, 139, 150, 160, 200, 250, 300, 340 y 350 marcados con TAMRA.

Una vez que se obtuvo el tamaño de cada banda se procedió a seleccionar aquellas que representen una variante o alelo y a descartar las secundarias e inespecíficas. El criterio seguido en este caso fue el de observar las gráficas de densitometría de cada grupo de bandas y seleccionar el pico correspondiente al fragmento de mayor longitud del grupo de fragmentos que componen el alelo y que suele coincidir con el de mayor intensidad de señal.

Los individuos heterocigotos con dos alelos separados un par de bases se presentan con una imagen de solapamiento de su grupo de picos; en este caso es muy importante valorar el cambio de la curva de intensidad de la señal de los dos primeros picos con respecto a la que proporcionaría si fuese un individuo homocigoto. Mediante el programa Genotyper<sup>®</sup> 2.5 se analizaron las gráficas de las bandas obtenidas con el programa Genescan y se identificaron los diferentes alelos presentes en cada uno de los microsatélites.

Hay dos fuentes de error que aconsejan emplear una denominación alélica y no el tamaño del fragmento calculado por el programa. El protocolo que se usó para signar el tamaño es el de construir dos curvas de regresión alrededor de cada pico detectado. Una de ellas incluye las dos bandas del estándar de tamaños inmediatamente superiores y la inmediata inferior; la otra se calculó tomando como referencia las dos inferiores y la primera superior. A continuación se asignó el tamaño medio de los obtenidos en cada caso.

En la práctica se observó que el cálculo del escalonamiento de los alelos de un marcador no es exactamente de dos bases sino que frecuentemente es de 2,2. Así si el más pequeño fuese de 130,00 pares de bases, el siguiente sería 132,20 y el quinto no sería de 140,00 sino de 141,00. Para no tener que trabajar con decimales, sabiendo que el número de nucleótidos es absoluto, la solución fue asignar a cada alelo una denominación numérica o alfanumérica, que además facilitara el trabajo posterior de tratamiento estadístico de los datos obtenidos. En este caso se procedió a asignar a cada alelo identificado una letra.

El criterio seguido, ya que no hay una denominación internacional estándar, es la observación de los primeros 75 análisis y al alelo de tamaño intermedio de los obtenidos para cada marcador en las muestras analizadas se le asignó la letra M. Al resto de alelos, presentes o no, se les reservó una letra sucesiva en tramos de incremento de tamaño de dos en dos bases. La otra fuente de error se produce al comparar los resultados de electroforesis distintas, siempre hay pequeñas variaciones que pueden originar a la postre un error en los cálculos que, cuando se aproxima a un par de bases origina una duda severa en la identificación alélica. Siguiendo el ejemplo anterior, si el primer alelo tiene un pico de 131,00 en lugar de 130,00 es muy difícil saber si es el alelo 130 o el 132 de otras tandas de electroforesis. Este error se corrigió disponiendo en todos los geles una o dos muestras de control. De esta forma si el alelo era el 130 y el cálculo en este gel arroja 131, la muestra control tendrá también 131 con lo que se puede corregir fácilmente la denominación de todos los alelos.

Las muestras de control no sólo se usaron para la electroforesis sino que se amplificaron con cada tanda de 46 muestras con lo que se tiene un control de la amplificación en cada caso. La ventaja de utilizar dos muestras de control, en vez de una, es que se abarcan más alelos de un mismo microsatélite y se disminuye la probabilidad de que un fallo en la amplificación o carga del gel recaiga sobre las dos muestras control, con lo que no se podría tipificar la tanda.

## **Tratamiento estadístico de los resultados**

### ***Análisis de la diversidad genética del cerdo Criollo Cubano***

Para determinar la diversidad genética los cálculos y determinaciones realizadas solo incluyeron la población Criollo Cubano, por cuanto sólo se trataron los 93 individuos pertenecientes a esta raza.

El cálculo del número de alelos por marcador se realizó mediante el recuento directo de los alelos presentes en cada *locus*. Las frecuencias alélicas para cada *locus* resultan de dividir el número de alelos iguales por el número total de alelos. Para determinar éstas últimas se empleó el programa informático GENETIX versión 4.01 (Belkhir, 1999).

#### ***Cálculo de la heterocigosidad***

Se calcularon la heterocigosidad observada (H) y la heterocigosidad esperada (He). La H se obtuvo por recuento directo de los individuos heterocigotos y la He se calculó a partir de las frecuencias génicas, supuesto equilibrio Hardy-Weinberg, mediante la fórmula de Nei (1973):

$$He = 1 - \sum_{i=1}^k x_i^2$$

donde:  $x_i$ , : frecuencia del alelo i;  
k : número de alelos

Las heterocigosidades para el conjunto de los marcadores y para cada uno de ellos en el total de las muestras analizadas se obtuvo con el programa informático GENETIX versión 4.01.

#### ***Cálculo del Contenido de Información Polimórfica (PIC)***

Se introdujeron los datos básicos de frecuencias alélicas en una hoja de cálculo EXCEL® (Microsoft), utilizando la fórmula propuesta por (Botstein y col., 1980):

$$PIC = 1 - \left( \sum_{i=1}^k x_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2x_i^2 x_j^2$$

donde k es el número de alelos,  $x_i$ ,  $x_j$ : frecuencia de los alelos i y j respectivamente.

Los mismos autores consideran como poco informativos los microsatélites que tomen un valor de PIC comprendidos entre 0 y 0.25, medianamente informativos los que tomen un valor comprendido entre 0.26 y 0.50 y los que tomen un valor superior a 0,51; son considerados muy informativos

#### ***Cálculo de la desviación del Equilibrio Hardy-Weinberg***

Para determinar el equilibrio Hardy-Weinberg por marcador se realizó un test exacto o de probabilidad de Fisher, usando el algoritmo en cadena de Monte Carlo-Markov (Guo y Thompson, 1992). Los cálculos se realizaron mediante el programa informático GENEPOP versión 3.1c (Raymond y Rousset, 1996), con 100 baterías de 1000 repeticiones, para  $P < 0.1$ .

## **Análisis de diferenciación genética**

### ***Cálculo del Coeficiente de diferenciación genética $G_{ST}$***

Para determinar la magnitud relativa de la diferenciación genética entre los dos tipos de cerdos (subpoblaciones), también se realizó el cálculo del Coeficiente de diferenciación genética  $G_{ST}$  (Nei, 1973), utilizando el programa informático GENETIX versión 4.01. La fórmula es la siguiente:

$$G_{ST} = \frac{H_{e_s}}{H_{e_T}}$$

Donde:

$H_{e_s}$ : diversidad genética o heterocigosidad esperada entre subpoblaciones

$H_{e_T}$ : diversidad genética o heterocigosidad en la población total.

### ***Cálculo de los índices de fijación (estadísticos $F$ )***

Para el cálculo de los índices de fijación (estadísticos  $F$ ) se utilizó el programa GENETIX versión 4.01. Se tuvo en cuenta la propuesta de Wright (1969), que propone medir las desviaciones de frecuencias genotípicas en poblaciones subdivididas por medio de tres parámetros:  $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  y  $F_{ST}$ . Estos estadísticos fueron calculados a partir de las frecuencias observadas de heterocigotos y de las medias de las heterocigosidades esperadas de la subpoblación y de la población total. Se utilizó la terminología de Weir y Cockerham (1984), que relaciona los distintos estadísticos con los propuestos por Wright:

$$F = F_{IT}, q = F_{ST}, f = F_{IS}$$

Los cálculos se realizaron mediante las fórmulas de Nei (1977):

$$F_{IS} = 1 - \frac{\bar{H}}{\bar{H}_{e_s}}, \quad F_{IT} = 1 - \frac{\bar{H}}{\bar{H}_{e_T}}, \quad F_{ST} = 1 - \frac{\bar{H}_{e_s}}{\bar{H}_{e_T}}$$

donde:  $\bar{H}$ : frecuencia observada de heterocigotos;

$\bar{H}_{e_s}$  y  $\bar{H}_{e_T}$ : heterocigosidad esperada en equilibrio Hardy-Weinberg o la medida de la diversidad genética en las subpoblaciones y población total respectivamente.

### ***Confección de árboles filogenéticos considerando los individuos como unidades taxonómicas operativas***

Para confeccionar el árbol filogenético con individuos como unidades taxonómicas operativas (OTU), se utilizó la aplicación MICROSAT v.1.5b (Minch, 1998), la cual se usa para calcular los pares de distancias genéticas entre individuos basadas en la proporción de alelos compartidos  $D_{SA}$  (Bowcock y col., 1994).

$$D_{SA} = 1 - \left( \sum_{j=1}^r i_{SA} / 2r \right)$$

Donde:

$r$ : número de *loci*

$i_{SA}$ : variable lógica tomando el valor del alelo  $i$ : si  $i_{SA} = 0$ , no se comparten alelos;

si  $i_{SA} = 1$ , se comparte un alelo; si  $i_{SA} = 2$ , se comparten dos alelos.

Los valores de las distancias obtenidos entre los ejemplares de las cuatro poblaciones muestreadas en Cuba, Criollo Entrepelado, Criollo Lampiño, Duroc Jersey y Hampshire (estas dos últimas razas se introdujeron por tratarse de las razas que más han participado en los cruzamientos con los animales criollos) sirvieron de base para construir un árbol individual filogenético basado en el algoritmo UPGMA (Sneath y

Sokal, 1973), mediante el módulo NEIGHBOR del programa PHYLIP versión 3.57c (Felsenstein, 1995), que se dibujó empleando la aplicación TREEVIEW (Page, 1998).

***Determinación de las relaciones filogenéticas entre el cerdo Criollo Cubano, las variedades más ancestrales de cerdo ibérico y las trazas Duroc y Hampshire.***

En el análisis se incluyeron 93 animales Criollo Cubano y de las variedades Ibéricas se incluyeron 83 Retintos Extremeños, 73 Entrepelados y 47 animales de la variedad Lampiño. También se incorporaron 40 ejemplares de la raza Duroc Jersey procedentes de poblaciones españolas (Duroc Jersey “español”), 8 ejemplares Duroc Jersey procedentes de poblaciones cubanas (Duroc Jersey “cubanos”), 12 individuos de la raza Hampshire y 128 animales de la raza española Chato Murciano. Esta última se incluyó como raza de referencia ya que es muy distinta del cerdo Ibérico (Martínez, 2001), y por no poseer ninguna relación conocida con la raza Criollo Cubano.

***Cálculo del Número de inmigrantes***

El Número de inmigrantes entre poblaciones por cada generación fue calculado con el programa GENETIX®, utilizando la fórmula propuesta por Wright (1969):

$$Nm = (1 - F_{ST}) / 4 * F_{ST}$$

***Cálculo de distancias genéticas***

Para determinar la diferenciación genética del cerdo Criollo Cubano con las variedades más ancestrales del cerdo ibérico y con las razas Duroc Jersey y Hampshire, se calcularon las distancias genéticas  $D_S$  de Nei, (1972) y la distancia  $D_A$  de Nei, (1983).

$$D = -\ln \left( \frac{\sum_i x_i y_i}{\sqrt{\sum_i x_i^2 \sum_i y_i^2}} \right) \quad D_A = 1 - \sum_i \sqrt{x_i y_i}$$

donde  $x_i$  e  $y_i$  son las frecuencias del i-ésimo alelo en las poblaciones X e Y respectivamente.

Para realizar los cálculos se utilizó el programa informático POPULATIONS 1.2.28 (<http://www.cnrs-gif.fr/pge>). Con las matrices de distancias  $D_A$  y  $D_S$  se construyeron dos árboles filogenéticos basados en el algoritmo Neighbor-Joining (Saitou y Nei, 1987). Para ello se utilizó el módulo NEIGHBOR del programa PHYLIP versión 3.5c (Felsenstein, 1995).

La fiabilidad de los árboles obtenidos se examinó con un test de replicaciones (bootstrapping) con 1.000 remuestreos con sustitución de los *loci* (Felsenstein, 1985) mediante la aplicación POPULATIONS. Para visualizar los árboles se empleó el programa TREEVIEW (Page, 1998).

## PRICIPALES RESULTADOS

En la tabla 4 se observa que los 20 microstélites amplificados fueron polimórficos, y la variación alélica oscila entre 4 y 12 alelos, para los microsatélites S0227 y S0068 respectivamente; el promedio de alelos fue de 8.15. Este promedio supera el 7.07 que reportaron Canul *et al.* (2003), para el cerdo Pelón Mexicano, supera también el promedio de 5.84 que presenta la variedad Entrepelado del cerdo Ibérico, según reporta Martínez (2001). Además es superior al promedio entre 2-5 alelos que reportan Sancristobal *et al.*, (2003) en 70 poblaciones porcinas europeas, así como el promedio de 3 alelos que reportan Peinado *et al.*, (2003) para el cerdo Chato Murciano.

El porcentaje de individuos heterocigotos se comportó por encima del 60%; alcanzándose valores de 63.35 %, para la heterocigosidad media observada y 65.35%, para la heterocigosidad media esperada. Estos valores son similares a los del Pelón mexicano, superan los reportados para las restantes razas mencionadas, y se ven superados por el valor de casi un 70% que obtienen Li *et al.*, (2000), en cuatro razas nativas chinas. El PIC por marcador tomó valores que fluctuaron entre 0.22 y 0.82, correspondiendo estos valores con los marcadores que presentaron el menor y el mayor número de alelos. De los 20 microsatélites analizados, 14 presentaron PIC por encima del 50 %, por lo que se consideran muy informativos para la raza, lo que permite optimizar la batería para futuros estudios con la raza, como pueden ser los análisis de paternidad y de asignación de individuos a la raza.

Tabla 4. Microsatélites tipificados, número de alelos, heterocigosidades esperada y observada y PIC por marcador en la población del cerdo Criollo Cubano.

Locus	Número de alelos	He	H	PIC
IGF1	7	0.75	0.75	0.70
S0026	8	0.51	0.55	0.47
S0068	12	0.84	0.73	0.82
S0090	6	0.70	0.60	0.66
S0101	7	0.72	0.72	0.69
S0155	9	0.78	0.75	0.74
S0178	11	0.82	0.83	0.80
S0215	5	0.26	0.28	0.25
S0225	9	0.47	0.43	0.45
S0226	10	0.81	0.67	0.78
S0227	4	0.25	0.29	0.22
S0228	8	0.39	0.35	0.38
S0386	8	0.79	0.71	0.77
SW72	8	0.71	0.67	0.67
SW240	9	0.79	0.79	0.76
SW632	9	0.62	0.63	0.60
SW857	9	0.80	0.89	0.78
SW911	8	0.74	0.76	0.70
SW936	11	0.80	0.74	0.78
SW951	5	0.52	0.53	0.46
Promedio	8.15	65.35%	63.35%	
He: Heterocigosidad esperada, H: Heterocigosidad observada, PIC: Contenido de Información Polimórfica.				

En la tabla 5 se recogen los valores de probabilidad obtenidos en la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg para todas las combinaciones *locus*/población. Se resaltan los marcadores que no se encuentran en desequilibrio Hardy-Weinberg ( $P < 0.1$ ). De los 20 marcadores estudiados un total de 12 resultaron estar en equilibrio y 8 no lo están. Los marcadores en desequilibrio son los siguientes, IGF1, S0090, S0155, S0225, S0226, S0228, SW857 y SW911. La situación de encontrarse el 60% de los marcadores en equilibrio Hardy-Weinberg, presupone que los perfiles genéticos formados por las frecuencias alélicas de los animales analizados manifiestan una tendencia al agrupamiento en una población homogénea.

La presentación de algunos microsatélites en estado de desequilibrio era de esperar, pues todas las poblaciones domésticas están sometidas a selección artificial, una de las fuerzas que alteran el equilibrio por definición, y de la cual no escapa el Criollo Cubano.

Tabla 5. Valores de probabilidad obtenidos en la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg ( $P < 0.1$ )

<b>Locus</b>	<b>Probabilidad</b>	<b>Locus</b>	<b>Probabilidad</b>
IGF1	<u>0.0000</u>	S0227	0.6795
S0026	0.9583	S0228	<u>0.0254</u>
S0068	0.2631	S0386	0.4657
S0090	<u>0.0915</u>	SW72	0.8115
S0101	0.1354	SW240	0.1549
S0155	<u>0.0653</u>	SW632	0.5148
S0178	0.3598	SW857	<u>0.0000</u>
S.0215	0.1556	SW911	<u>0.0022</u>
S0225	<u>0.0446</u>	SW936	0.5052
S0226	<u>0.0070</u>	SW951	0.4322
Subrayados los microsatélites que están en desequilibrio			

Una fuerza que puede estar afectando a la población del cerdo Criollo Cubano y que puede contribuir al desequilibrio de los 8 *loci* es la migración. Más adelante en este trabajo se presentan resultados que demuestran la existencia de un flujo de genes importante desde otras razas, especialmente desde la raza Hampshire.

Otro proceso que provoca desequilibrio es la deriva genética y a nuestro juicio la población criolla no se encuentra exenta de la misma. El hecho de que la población del cerdo Criollo Cubano esté segmentada en pequeñas explotaciones que en ocasiones no intercambian reproductores, puede estar provocando que este proceso dispersivo la esté afectando. Aranguren (2003) obtuvo desequilibrio en varios *loci* de las poblaciones de asnos y entre otros factores le atribuye responsabilidad a la subestructuración reproductiva.

A la migración o flujo de genes desde una fuente externa, así como a la selección y a la subdivisión dentro de las poblaciones, Callen y col. (1993) le confieren mucha importancia a la hora de explicar una desviación significativa del equilibrio Hardy-

Weinberg para un número independiente de *loci*. Los valores de la consanguinidad obtenidos para cada *locus* de la población del cerdo Criollo Cubano (tabla 6) resultan bajos, por lo que se descarta este proceso como responsable del desequilibrio.

Con el propósito de buscar evidencias sobre la posible existencia de diferencias genéticas entre los dos tipos morfológicos reconocidos dentro de la raza, el Entrepelado y el Lampiño o Chino como también se le conoce en Cuba, se realizaron análisis de diferenciación, subdividiendo la población atendiendo a los dos tipos mencionados. Como se observa en tabla 6 el Coeficiente de diferenciación genética ( $G_{ST}$ ) y del Índice de diferenciación genética ( $q$ ) para cada uno de los marcadores, se obtuvieron valores tan pequeños, que con ninguno de ellos fue posible determinar diferencias genéticas entre los dos tipos de animales.

Los valores promedios que se obtienen del  $G_{ST}$ , 0.70%, y del  $q$ , 0.12%, evidencian la no existencia de diferenciación. Se debe tener presente, que se acepta la existencia de diferencias genéticas cuando ambos parámetros alcanzan valores superiores al 10%. También fueron determinados los Índices de fijación o estadísticos  $F$ . Tanto para el Índice de fijación para el conjunto de la población ( $F$ ), como para las subpoblaciones ( $f$ ), se obtuvieron valores pequeños y muy similares entre ambos parámetros, en cada uno de los *loci*. La similitud entre los valores es otra evidencia de que ambos tipos morfológicos no se diferencian genéticamente, lo que permite corroborar los hallazgos del  $G_{ST}$  y del  $q$ . Los bajos valores de los estadísticos  $f$  se interpreta como que la población criollas no se encuentra afectada por la consanguinidad.

Tabla 6. Coeficiente de diferenciación genética ( $G_{ST}$ ) y estadísticos  $q$ ,  $F$  y  $f$  para todos los *loci* de los dos tipos del cerdo Criollo Cubano.

<b>Locus</b>	<b><math>G_{ST}</math></b>	<b><math>q</math></b>	<b><math>F</math></b>	<b><math>f</math></b>	<b>Locus</b>	<b><math>G_{ST}</math></b>	<b><math>q</math></b>	<b><math>F</math></b>	<b><math>f</math></b>
<b>IGF11</b>	0.0069	-0.0010	0.0376	0.0386	<b>S0227</b>	0.0082	-0.0013	0.0390	0.0402
<b>S0026</b>	0.0078	-0.0014	0.0404	0.0417	<b>S0228</b>	0.0044	-0.0010	0.0330	0.0340
<b>S0068</b>	0.0207	-0.0028	0.0281	0.0309	<b>S0386</b>	0.0085	-0.0009	0.0305	0.0314
<b>S0090</b>	0.0079	-0.0008	0.0282	0.0290	<b>SW72</b>	0.0129	-0.0019	0.0340	0.0038
<b>S0101</b>	0.0078	-0.0012	0.0384	0.0395	<b>SW240</b>	0.0090	-0.0015	0.0382	0.0397
<b>S0155</b>	0.0057	-0.0011	0.0354	0.0365	<b>SW632</b>	0.0114	-0.0017	0.0381	0.0398
<b>S0178</b>	0.0046	-0.0008	0.0385	0.0393	<b>SW857</b>	0.0056	-0.0011	0.0444	0.0455
<b>S.0215</b>	0.0021	-0.0010	0.0367	0.0377	<b>SW911</b>	0.0045	-0.0010	0.0386	0.0396
<b>S0225</b>	0.0042	-0.0009	0.0328	0.0337	<b>SW936</b>	0.0044	-0.0008	0.0332	0.0341
<b>S0226</b>	0.0032	-0.0005	0.0257	0.0263	<b>SW951</b>	0.0003	-0.0007	0.0382	0.0389
<b>Promedio</b>						0.70%	0.12%	3.54%	3.66%

Se confeccionó un árbol filogenético, representado en el gráfico 1 (Anexos) considerando a todos los individuos como unidades taxonómicas operativas (OTU), representando las distancias genéticas entre los individuos, basado en la proporción



de alelos compartidos (Bowcock *et al.*, 1994); además de los criollos se incorporaron los animales Hampshire y Duroc, por tratarse de las dos razas que mayormente se han cruzado con el cerdo Criollo Cubano. En el árbol se aprecia con claridad un entremezclado de los individuos Entrepelados y Lampiños, lo que no debía ocurrir si se tratara de individuos diferenciados genéticamente, por lo tanto es otra nueva evidencia de la similitud genética de los dos tipos morfológicos.

En ese mismo árbol aparecen un poco mejor agrupados los individuos de la raza Hampshire, aunque algunos miembros se entremezclan con los criollos, lo cual es una señal de la relación que viene existiendo entre ambas razas. Los animales Duroc presentan un agrupamiento mejor definido.

Se presentan otros resultados que se obtienen del estudio de las relaciones filogenéticas entre el cerdo Criollo Cubano, las variedades más ancestrales del cerdo Ibérico y las razas Duroc y Hampshire. En la tabla 7 se muestra el comportamiento de la tasa de migración entre las distintas poblaciones, la raza Hampshire con 4.25, se presenta como la de mayor flujo de genes hacia la raza criolla; sobre tal relación se habían referido (Colectivo del ICA, 1995 y Diéguez *et al.*, 1997). Valores de la tasa fluctuando entre 2 y 4 se aprecian entre el criollo y las variedades Ibéricas. El mayor flujo se produjo desde la variedad Entrepelado, seguida del Retinto Extremeño y finalmente la variedad Lampiño. La tasa de migración entre el Criollo y el Duroc es inferior, evidenciando que están menos relacionadas que las dos anteriores. El valor más bajo (1.69), se obtiene entre la criolla y la Chato Murciano, lo que demuestra que estas razas están muy poco relacionadas tal y como se presumía.

Tabla 7. Número de inmigrantes entre pares de poblaciones por cada generación, según Wright (1969).

	ENTREP	LAMPIÑO	CHATO M.	DUROC-E	CRIOLLO	DUROC-C	HAMP
RETINTO	<u>11.14</u>	3.05	<b>1.22</b>	<b>1.44</b>	3.04	<b>1.23</b>	<b>1.53</b>
ENTREP		2.8	<b>1.30</b>	<b>1.72</b>	3.92	<b>1.33</b>	<b>1.81</b>
LAMPINO			<b>1.08</b>	<b>1.24</b>	2.42	<b>1.05</b>	<b>1.36</b>
CHATO M.				<b>1.33</b>	<b>1.69</b>	<b>1.00</b>	<b>1.55</b>
DUROC - E					2.52	<u>4.31</u>	2.35
CRIOLLO						2.41	<u>4.25</u>
DUROC C							2.63

Subrayado: valores más elevados, cursivas: valores intermedios, negritas: valores inferiores.

Similar estructura de relación quedó evidenciada en otros estudios realizados, como son, los resultados de las dos distancias genéticas Nei, 1972 y 1983 (tabla 8) y de los árboles filogenéticos obtenidos, representados por los gráficos 2 y 3 (Anexos) a partir de los valores de las matrices de las dos distancias genéticas calculadas.

En el análisis de distancia se introduce el cerdo Criollo Cubano dividido por tipos morfológicos, Entrepelado y Lampiño, las distancias genéticas obtenidas entre ellos tomaron valores de 0.027 y 0.037 por los métodos de Nei,  $D_S$  (1972) y Nei,  $D_A$  (1983)

respectivamente. Estos valores representan las cifras de distancias más bajas que se obtienen en este estudio, lo que constituye una nueva aportación que demuestra que los dos tipos morfológicos Entrepelado y Lampiño del cerdo Criollo Cubano no se diferencian genéticamente. Otro detalle interesante que vuelva a corroborar lo mismo radica en que regularmente los valores de distancia que se obtienen entre los dos tipos Entrepelado y Lampiño del cerdo Criollo Cubano y las demás razas y variedades son similares cuando se calculan por uno u otro de los dos métodos empleados.

Entre la raza Chato Murciano y el cerdo Criollo Cubano, Entrepelado y Lampiño, se obtuvieron valores de distancias de 0.261 y 0.252 calculada con el método de Nei de 1972 y de 0.221 y 0.226 al calcularse por el método de Nei de 1983. Estos valores son los más elevados que se obtienen entre las distintas poblaciones, lo que indica en primer lugar que la misma se encuentra lejana genéticamente del cerdo Criollo, que es una raza diferente del mismo y que la asunción de tomarla como raza de referencia quedó demostrada. Anteriormente en el análisis del número de inmigrantes o la tasa de migración entre pares de poblaciones, se observó que esta raza es la que presentó el valor más bajo de migración respecto al cerdo Criollo Cubano.

Al analizar el distanciamiento genético entre el Cerdo Criollo y las variedades más ancestrales del cerdo Ibérico, se encontró que con la variedad ibérica Entrepelado se obtienen valores de 0.119 y 0.117 por el método de Nei,  $D_S$  (1972) y valores de 0.155 y 0.167 cuando se utilizó el método de Nei  $D_A$  (1983). Estos valores son bajos, representan las distancias más cortas entre el cerdo Criollo Cubano y las demás variedades y razas analizadas, lo que indica que esta variedad y la raza criolla están muy relacionadas; además se corrobora el resultado obtenido anteriormente en el análisis de la tasa de migración, donde se observó un flujo de genes importante desde dicha variedad hacia el Criollo Cubano.

Los valores de distancias que se obtienen entre el Criollo Cubano y la variedad Retinto Extremeño son de 0.151 y 0.141 respectivamente, cuando se calculó con el primer método y de 0.168 y 0.178 al calcularse por el segundo método. La valoración de estos resultados es similar a lo planteado en el párrafo anterior cuando se valoró la variedad Entrepelado, las distancias son cortas, se evidencia que esta variedad está cercana o muy relacionada con el cerdo Criollo Cubano. Al analizar la tasa de migración se observó que dentro de las variedades ibéricas ésta ocupaba el segundo lugar en cuanto al nivel de migración hacia el cerdo Criollo Cubano.

Entre la tercera variedad ibérica analizada, la Lampiño y el cerdo Criollo Cubano se obtienen los valores de distancias genéticas siguientes, por el primer método 0.196 y 0.184 y por el segundo de 0.206 y 0.210. Estos valores indican que de las tres variedades ancestrales del cerdo Ibérico analizadas, ésta es la más distante del cerdo Criollo Cubano. Cuando analizamos los niveles de migración se encontró que entre las variedades ibéricas, la Lampiño precisamente fue la que menos aportó en el flujo de genes hacia el cerdo Criollo Cubano. Estos resultados demuestran que esta variedad es la menos relacionada filogenéticamente con el cerdo Criollo Cubano.

Las cortas distancias genéticas encontradas entre el cerdo Criollo Cubano y las variedades ancestrales ibéricas, especialmente las variedades Entrepelado y Retinto Extremeño permiten coincidir con Barba y col. (2000), que en un estudio comparativo de variables zoométricas entre el cerdo Criollo Cubano y algunas variedades ibéricas

encontraron similitudes entre ambas razas, especialmente en cuanto a las medidas cefálicas. Aparicio Sánchez (1956) planteó que los parámetros cefálicos son los que menor variación presentan por la influencia del medio ambiente.

Otra raza analizada fue la Hampshire, los valores que tomaron las medidas de distancias genéticas entre ella y el cerdo Criollo Cubano fueron de 0.148 y 0.168 y de 160 y 0.184 calculadas con el primer y segundo método respectivamente. Los valores obtenidos indican una corta distancia entre las dos razas, se evidencia tal como ocurrió en el análisis de distancia entre individuos y de la tasa de migración que las mismas se encuentran muy relacionadas. Estos hallazgos confirman lo planteado por Diéguez y col. (1997) con relación a que estas dos razas estaban relacionadas.

Las valores que toman las distancias genéticas entre las razas Criollo Cubano y Duroc son superiores a los encontrados entre el primero y las variedades ibéricas, así como a los valores que se obtienen entre el cerdo Criollo y la raza Hampshire, pero resultan inferiores a los que se obtienen entre el cerdo Criollo y el Chato Murciano. Un comportamiento similar se obtuvo en la tasa de migración, lo cual indica que la raza Duroc se encuentra más distante del Criollo que las variedades ibéricas y que la raza Hampshire, pero más relacionada filogenéticamente que la raza Chato Murciano.

Coincidentemente Martínez y col. (2003b) reportaron que encontraron un mayor acercamiento entre el cerdo Criollo Cubano y la raza Hampshire y las variedades ibéricas y un poco más alejada se encontró la raza Duroc Jersey.

La distribución espacial que adoptan las diferentes razas y variedades en los árboles filogenéticos corroboran la estructura de relación obtenida tanto en los análisis de migración como en los análisis de distancias genéticas, o sea el cerdo Criollo Cubano sin diferencias genéticas intraracial, muy cercano a las variedades Ibéricas y relacionado con el Hampshire y en menor medida con el Duroc.

Tabla 8. Matriz de distancias. Distancia genética standard de Nei,  $D_S$  (1972), debajo de la diagonal y Distancia genética de Nei,  $D_A$  (1983), encima de la diagonal.

	RETIN	ENTREP	LAMP	CHATO	DUROC E.	CC ENTREP	CC LAMP	DUROC C.	HAMP
RETIN	000	0.040	0.123	0.248	0.222	0.168	0.174	0.273	0.245
ENTREP	0.039	000	0.130	0.253	0.212	0.155	0.167	0.276	0.237
LAMP	0.122	0.134	000	0.271	0.282	0.206	0.210	0.338	0.274
CHATO	0.309	0.291	0.355	000	0.237	0.221	0.226	0.322	0.232
DUROC E.	0.274	0.233	0.334	0.296	000	0.173	0.179	0.140	0.175
CC ENTREP	0.151	0.119	0.196	0.261	0.202	000	<b>0.037</b>	0.215	0.160
CC LAMP	0.141	0.117	0.184	0.252	0.196	<b>0.027</b>	000	0.228	0.184
DUROC C.	0.356	0.334	<u>0.410</u>	<u>0.411</u>	0.133	0.254	0.253	000	0.187
HAMP	0.277	0.238	0.313	0.274	0.208	0.148	0.168	0.213	000

En negrita: valores de distancia más bajos, Surayado: valores de distancia más altos

Teniendo en cuenta que el cerdo Criollo Cubano y el cerdo Ibérico no intercambian material genético desde hace más de 400 años, el importante flujo de genes que se observa, los pequeños valores de las distancias genéticas obtenidos y la

representación cercana que adoptan en el árbol filogenético, debe obedecer a que el cerdo Criollo Cubano es originario del cerdo Ibérico, tal y como lo plantean (Rodero *et al.*, 1992; Diéguez *et al.*, 1997; Barba *et al.*, 1998; Velásquez *et al.*, 1998; Rico *et al.*, 1999; Santana *et al.*, 1999 y Calderín, 2002), entre otros autores.

## **VALORACIÓN ECONÓMICA Y APOORTE SOCIAL.**

Antes de adentrarnos en el impacto social de los resultados alcanzados en el estudio, es oportuno señalar que el objeto de investigación resultó ser el cerdo Criollo Cubano, la única raza de la especie porcina que constituye un patrimonio de la república de Cuba, la cual atraviesa una situación cargada de amenazas o riesgos de desaparecer, situación reconocida por productores, científicos, investigadores, directivos y otros entes sociales. Es importante además destacar que el estudio se realizó utilizando las herramientas científicas más actuales utilizadas en el campo de la genética a nivel mundial, y constituyen las técnicas recomendadas por la FAO y la Sociedad Internacional de Genética Animal para estudiar la biodiversidad de los diferentes recursos genéticos.

Los principales aportes del estudio realizado son los siguientes:

1. Se reporta por primera vez la diversidad y tipificación genética del cerdo Criollo Cubano, obtenida a partir de estudios con marcadores moleculares propuestos por la FAO y la ISAG, lo que permitió establecer que el cerdo criollo Cubano a pesar de los diferentes riegos es una raza que aún existe, que está perfectamente definida, y que además presenta elevada diversidad genética.

Estos hallazgos permiten que la comunidad científica deje atrás el escepticismo y la especulación científica respecto a que si el cerdo Criollo Cubano aún constituye o no una raza; aspecto muy importante ya que se puede volver a retomar el interés por la misma y el inicio de nuevas investigaciones que indudablemente contribuirán al mejoramiento y desarrollo de la raza.

Demostrar que la raza presenta elevada diversidad genética, constituye otro aspecto de mucho interés para la comunidad científica, ya que el enfoque de trabajo y la metodología para la investigación científica y el desarrollo en el campo de una raza, varía en dependencia de si la misma presenta una elevada o baja diversidad genética.

Lo anteriormente señalado ha provocado que se haya incrementado el interés nacional por la raza, principalmente por los investigadores cubanos del Instituto de Investigaciones Porcinas y de la Empresa Nacional Genética Porcina, y por investigadores y científicos del área Iberoamericana, los cuales trabajan conjuntamente con nosotros en la elaboración y presentación de varios proyectos de investigación y desarrollo.

Los proyectos fundamentales son los siguientes:

- Obtención de productos cárnicos diferenciados y con alto valor agregado a partir de canales del cerdo Criollo Cubano. Proyecto que se desarrolla en conjunto con el Instituto de Investigaciones Porcinas de La Habana.
- Relaciones filogenéticas entre el cerdo Criollo Cubano y los cerdos Pelón Mexicano, Chongo Colombiano, Pampa Argentino, Mamellado Uruguayo, Criollo Ecuatoriano, Criollo Salvadoreño. Proyecto que se desarrolla en el seno de la Red Iberoamericana XII-H del CYTED, sobre la Conservación de la

Biodiversidad de los Animales Domésticos Locales para el Desarrollo Rural Sostenible.

- Determinación de la calidad y del perfil de ácidos grasos de las canales del cerdo criollo Cubano. Proyecto en conjunto con el Instituto de Investigaciones de Lechería y Porcino de Lennoxville, Queveb, Canadá. Se encuentra en gestión del financiamiento en Canadá.
  - Solicitud de tutoría de tesis doctoral por nuestra parte de un aspirante a doctor, profesor de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, en la temática de la Caracterización genética del cerdo Criollo Venezolano, utilizando microsatélites.
  - Mejoramiento de las tecnologías tradicionales de producción del cerdo Criollo Cubano. Proyecto en desarrollo por nuestro grupo dentro del CRIBAH, en la UDG.
2. Se ofrecen las primeras evidencias que demuestran que dentro del cerdo Criollo Cubano no existen diferencias genéticas entre animales Lampiños y Entrepelados, que permitan catalogarlos como variedades. Estos resultados dieron a conocer a la comunidad científica que dentro del cerdo Criollo Cubano los animales Entrepelados (con abundante pelo) y los Lampiños o Chinos, no son diferentes genéticamente o sea que son similares, a diferencia de lo que se conoce y se reporta dentro de la raza Ibérica.

Una expresión clara del efecto de este hallazgo se expresa en el hecho de que en los nuevos proyectos de investigaciones que se están encaminando, no se diseñan experimentos que contemplan determinar diferencias de algún tipo entre los dos tipos morfológicos ya mencionados. Esto tuvo eco también en la estrategia nacional de conservación de la raza, especialmente en el centro genético nacional de la raza.

3. Se obtienen los primeros resultados que demuestran la cercanía genética existente entre el cerdo Criollo Cubano y las variedades más ancestrales del cerdo Ibérico. Encontrar que existe cercanía genética o lo que es lo mismo similitud genética entre estas dos razas después de transcurridos cerca de 500 años sin intercambiar material genético es un hecho muy interesante y alentador para los interesados en estudiar y desarrollar esta raza.

Actualmente existe mucho interés por parte de varios investigadores en nuestro país en investigar el comportamiento de la ceba de cerdos criollos alimentados con el fruto de la encina, planta que sólo tiene producciones en la provincia de Pinar del Río. Actualmente existe un proyecto financiado por el CITMA en dicha provincia que tiene como objetivo estudiar dicho comportamiento y además determinar la calidad de los productos cárnicos obtenidos.

Atendiendo a que el palmiche es una materia prima caracterizada por poseer algunos ácidos grasos insaturados, lo cual puede condicionar una acumulación de las llamadas grasas beneficiosas a nivel muscular, también varios investigadores están trabajando en esa dirección, en busca de productos de alta calidad similar a los obtenidos del cerdo Ibérico.

### ***Impacto económico y social***

Por las características de la investigación realizada, no es posible o resulta muy difícil mostrar el impacto económico de los resultados de una manera tangible,

como ocurre en otro tipo de investigaciones. Por ello no se muestran cifras de ganancias en MLC o MN, ni se informan incremento de las exportaciones o reducción de importaciones, tal como se recoge en la Resolución Económica del V Congreso del PCC, no obstante, consideramos que los resultados obtenidos si poseen un efecto económico inmediato y mediato, que a continuación trataremos de explicar.

- Los resultados obtenidos sin dudas contribuyen a simplificar las investigaciones presentes y futuras sobre la raza, lo cual reduce tiempo, esfuerzo y recursos materiales y financieros al país; resultando finalmente, un incremento de la eficiencia investigativa y en ahorro de todo tipo para el país. Lo planteado anteriormente se comprende mejor si tenemos en cuenta que un análisis de este tipo en un animal tiene un costo aproximado de \$ 60.00 USD.

- Los resultados han permitido perfeccionar la Estrategia Nacional para el uso y la conservación de la raza, lo cual permite mayor eficiencia y eficacia en los trabajos de conservación y mejora genética de la raza a nivel nacional.

- De los 20 microsatélites analizados 14 resultaron los de mayor calidad informativa, lo que permite optimizar la batería de microsatélites para futuros estudios de la raza, como la investigación genealógica, la asignación de individuos a la raza y análisis de trazabilidad, lo que sin dudas ahorrará recursos financieros al país. Hay que tener presente que los estudios de ADN con marcadores moleculares son muy costosos, por lo que éstos aún no se realizan con facilidad en nuestros países en vías de desarrollo.

La cercanía genética encontrada entre el cerdo Criollo Cubano y los cerdos Ibéricos, significa que los criollos presentan potencialidades genéticas y productivas para aportar productos diferenciados de alta calidad y de alto valor económico, tal y como ocurre con el cerdo Ibérico, que es capaz de producir el mejor jamón a nivel mundial. Por lo tanto estas bondades deben ser aprovechadas en nuestro país, lo cual debe en un futuro inclusive tener efecto económico en el sector turístico.

### ***Impacto ecológico y ambiental.***

Desde este punto de vista los resultados también hacen una gran contribución, teniendo en cuenta que estos estudios constituyen los más profundos realizados en Cuba hasta el presente en uno de los recursos genéticos constitutivos del patrimonio nacional. El objetivo supremo por el cual hemos estudiado esta raza radica en la gran necesidad de conservarla o sea evitar su extinción, como ha ocurrido con cientos de razas animales y especies vegetales en todo el mundo.

EL cerdo criollo es un animal que se encuentra perfectamente adaptado a las condiciones agroecológicas de nuestro país, se alimenta de restos de cosecha, pastos, palmiche e incluso caracoles y otros animales de la pequeña fauna terrestre, lo que le permite mantener la regeneración continua de los campos y el reciclaje de nutrientes, contribuyendo así al mantenimiento de la biodiversidad; a la vez que convierte alimentos de baja calidad en alimentos de alto valor nutritivo para el hombre. Es la única raza capaz de producir carnes y subproductos ecológicos.

El mantenimiento del cerdo Criollo en el agro cubano contribuye indirectamente al mantenimiento de la biodiversidad, ya que el cerdo constituye en la mayoría de las áreas geográficas la más importante fuente de ingresos monetarios, lo cual permite

el mantenimiento del hombre en el campo y que asociado a este, se mantengan las demás especies domesticas, así como el cultivo de una gran variedad de especies vegetales.

Otra contribución a favor del mantenimiento de los ecosistemas se fundamenta en que el cerdo criollo mantiene determinadas producciones en ecosistemas frágiles o deficitarios, donde ninguna otra raza porcina podría sobrevivir. Este tipo de animal no necesita tecnologías de alimentación ni instalaciones en sistemas estabulados de importación, que concentran un gran número de animales provocando gran contaminación ambiental. Por otro lado con el criollo se mantienen los sistemas de producción sostenibles, manteniendo los sistemas tradicionales de producción con el apego del hombre a su tierra, a su cultura y a su forma de vida tradicional.

## **SOLUCIONES QUE APORTA EL TRABAJO**

1. Se tipifica genéticamente el cerdo Criollo Cubano, a partir de estudios con marcadores moleculares del ADN (microsatélites) propuestos por la FAO y la ISAG, obteniéndose que la raza perfectamente definida.
2. Utilizando las herramientas más modernas y confiables se demostró que el cerdo Criollo Cubano presenta elevada diversidad genética, obteniéndose información molecular indispensable para implementar la estrategia nacional de conservación y mejoramiento de la raza.
3. Se obtuvo la valiosa información que asegura que la población del Criollo Cubano no se encuentra afectado por la consanguinidad.
4. Quedó demostrado que el cerdo Criollo Cubano es un ente racial homogéneo, que desde el punto de vista genético no se subdivide en variedades.
5. Se comprobó con el método de mayor confiabilidad la cercanía genética existente entre el cerdo Criollo Cubano y las variedades más ancestrales del cerdo Ibérico, lo que permite afirmar que el cerdo Criollo es originario del cerdo Ibérico y que se justifica seguir trabajando para obtener a partir de sus carnes productos de alto valor agregado tal como se obtiene del cerdo Ibérico.
6. Se descubrió que la población del cerdo Criollo Cubano está influenciada con genes de las razas Hampshire y Duroc, situación que pone en riesgo la conservación de la raza.

## CONCLUSIONES

1. El hecho de encontrar que la totalidad de los microsatélites estudiados resultaron polimórficos y que más del 60% de individuos heterocigotos indica que la raza presenta una elevada diversidad genética.
2. De los 20 microsatélites estudiados 14 mostraron un PIC elevado, por tanto esta batería puede ser optimizada para otros estudios dentro de la raza como la investigación genealógica y la asignación de individuos a poblaciones.
3. Al encontrar un 40% de los microsatélites en desequilibrio Hardy-Weinberg, advierte que los efectos sistemáticos (selección y migración) y especialmente los dispersivos de la deriva genética pueden estar afectando actualmente la raza.
4. Los Lampiños y Entrepelados no manifiestan diferencias genéticas aparentes. El promedio de alelos por *locus*, los alelos más frecuentes, los valores de heterocigosidad y los de *F* demuestran la homogeneidad genética de la raza.
5. Los bajos valores de los Coeficientes de diferenciación genética confirman que no existen grupos genéticos subraciales.
6. El árbol de relaciones individuales mostró en el espacio una total imbricación de los individuos lampiños y entrepelados. Sin embargo se diferencian de los individuos de las razas Duroc Jersey y Hampshire.
7. Existe un flujo de genes importante desde las variedades ibéricas Retinto Extremeño y Entrepelado y en menor medida del Lampiño hacia el Criollo Cubano.
8. El flujo de genes observado desde la razas Hampshire y en menor medida desde la Duroc demuestra la influencia reciente e importante de éstas hacia la criolla, aspecto a tenerse en cuenta en el programa de conservación o mejora de la raza.
9. Las dos distancias genéticas corroboran la estructura de relación planteada con el flujo genético. El Criollo Cubano (ambos tipos), se encuentra próximo al grupo Ibérico, con una clara diferenciación frente a las otras razas, en especial con el Chato Murciano.

## RECOMENDACIONES

1. Elaborar una estrategia de conservación que garantice mantener la diversidad genética que presenta la raza, manteniendo núcleos reproductivos en pureza y planificando los apareamientos con las razas especializadas. A la vez que se aproveche la situación favorable que presenta la población total en cuanto a la consanguinidad para mantener bajos los niveles en los pequeños rebaños.
2. No plantear una diferenciación entre tipos de animales a la hora de planificar apareamientos en los programas de conservación o mejora de la raza.
3. En estudios futuros de investigación genealógica o asignación de individuos a poblaciones se deben utilizar los 14 microsatélites más informativos.
4. Continuar desarrollando los trabajos de conservación y mejora genética que se llevan a cabo en el centro genético de la raza, ya que los animales que componen su plantel son representativos de la población criolla.
5. Desarrollar un proyecto donde se contemple la producción de este tipo de cerdo en condiciones extensivas y se obtenga de sus canales productos diferenciados con mayor valor agregado y que justifique económicamente la conservación de la raza.
6. Utilizar los resultados teóricos-prácticos presentados en este trabajo en la enseñanza de pre y posgrado de las diferentes enseñanzas afines a la especialidad.



## BIBLIOGRAFÍA

1. Aparicio Sánchez, G. 1956 Capacidad evolutiva del cerdo de tipo Ibérico. *Archivos de Zootecnia*. 5(20):349-358.
2. Aranguren, J. A. 2003. Caracterización y relaciones filogenéticas de cinco razas asnales españolas en peligro de extinción mediante la utilización de marcadores microsatélites. *Tesis doctoral* . Universidad de Barcelona. Barcelona. España.
3. Barba, C. J., Velásquez, F., Pérez Freeman, F. y Delgado, J. V. 1998. Contribución al estudio racial del cerdo Criollo Cubano. *Archivos de Zootecnia*. 47: 51-59.
4. Belkhir, K. 1999 Genetix: Logiciel sous Windows<sup>TM</sup> pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions. CNRS UPR 9060.
5. Botstein, D., White, R. L., Skolnick, H., Davis, R. W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*. 32, 314-331.
6. Bowcock, A. M., Ruiz-Linares, A., Tomfohrde, J., Minch, E., Kidd, J. R., Cavalli-Sforza, L. L. 1994. High resolution of human evolution with polymorphic microsatellites. *Nature*. 368, 455-457.
7. Calderín, P. 2002. Porcicultura Tropical. Una forma sostenible de producción en Cuba I. Antecedentes históricos. *Rev. ACPA*. No. 4. Pp. 46-47.
8. Callen, D. F., Thompson, A. D., Shen, Y., Phillips, H. A., Richards, R. I., Mulley, J. C. and Sutherland, G. R. 1993. Incidence and origin of "null" alleles in the (AC)<sub>n</sub> microsatellite markers. *American Journal of Human Genetics* 52, 922-927.
9. Canul Marisela, Sierra, A. y Martínez, M. A. 2003. Caracterización genética del cerdo Pelón Mexicano mediante marcadores moleculares en Yucatán, México. *Programa/Resúmenes VI Congreso Iberoamericano de razas criollas y autóctonas*, Recife, Brasil.
10. Comisión Nacional de Recursos Genéticos de la República de Cuba. 2003. Informe del país sobre la situación nacional de los recursos zoogenéticos. La Habana. Cuba. Pp. 22-23.
11. Delgado, J.V. 2000. La conservación de la biodiversidad de los animales domésticos locales para el desarrollo rural sostenible. I Reunión de coordinación de la RED iberoamericana XII-H. Mérida, México. *Archivos de Zootecnia*. 49, 317-326.
12. Diéguez, F.J., Santana, I., Ly, J., Trujillo, G., Rico, C., Arias, T., Del Toro, Y., Roque, R. y García, A. 1997. Evaluación integral del cerdo Criollo. *Rev. ACPA*. 16 (1):45-48.
13. FAO. 1998. Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans: Management of small populations at risk, FAO. Rome.
14. Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*. 29, 783-791.
15. Felsenstein, J. 1995. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.5c. University of Washington.

16. Guo, S. W. and Thompson, E. A. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics*. 48, 361-372.
17. I.C.A. 1995. XXX Aniversario del Instituto de Ciencia Animal. *Seminario Científico Internacional*. La Habana. Pp. 162-165.
18. Li, K., Chen, Y., Moran, C., Fan, B., Zhao, S. and Peng, Z. 2000. Analysis of diversity and genetic relationships between four Chinese indigenous pig breeds and one Australian commercial pig breed. *Animal Genetics*. 31, 322-325.
19. Martínez, A. M. 2001. Caracterización genética del cerdo Ibérico mediante marcadores moleculares. *Tesis doctoral*. Universidad de Córdoba. Córdoba. España.
20. Martínez, A.M., V., Vega-Pla, E. Pérez-Pineda, C. Barba, F. J. Velázquez, J. Delgado. 2003. Caracterización genética del cerdo Criollo Cubano con microsatélites. Programa/Resúmenes VI Congreso Iberoamericano de razas criollas y autóctonas, Recife, Brasil.
21. Minch, E. 1998. MICROSAT Version 1.5b (Macintosh). University of Standford. Standford.
22. Mullis, K., Falcoma, F., Scharf, S., Snikl, R., Horn, G. T., Erlich, H. 1986. Specific amplification of DNA *in vitro*: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*. 51, 260.
23. Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*. 106, 283-282.
24. Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. 70, 3321-3323.
25. Nei, M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann. Human Genetics*. 41, 225-233.
26. Nei, M. 1983. Genetic polymorphism and the role of mutation in evolution. *Evolution of genes and proteins* (Nei, M. and. Khoen., R. Ed.). 165-190, Sunderland.
27. Page, R.D.M. 1998. Tree drawing software for Apple Macintosh and Microsoft Windows. In: <http://taxonomy.zoology.gla.uk/rod/rod.html>. Divisiont of Enviromental and Evolutionary Biology, Institute of Biomedical and Life Sciences, University of Glasgow, Glasgow G128QQ, Scotland, UK.
28. Peinado, B., Poto, A., Vega-Pla, J. L., Martínez, M. A., Barba, C. y Delgado, J. V. 2003. Genetic of the Chato Murciano pig greed under a recovery program. Pig Biodiversity. *Archivos de Zootecnia*. 52, 273-278.
29. Rico, Carmen., Mora, M. y Roque, R. 1999. Indicadores reproductivos de cerdas del rebaño genético Criollo Cubano: primeros resultados. *Rev. Fac. Cs. Vets. UCLV*, 40:195. Cuba.
30. Rodero, A., Delgado, J. V. y Rodero, E. 1992. "Primitive Andalusian Livestok and their implications in the discovery of America". *Archivos de Zootecnia*. Vol 41 (extra): 383-400.
31. Sancristobal, M., Chelavet, C., Foulley, J. L., Oliver, L. 2003. Some methods for analyzing genetic marker data in a biodiversity setting-example of the PIGBIODIV DATA. Pig. Biodiversity. *Archivos de Zootecnia*. 52, 173-183.

32. Santana, I., Trujillo, G. y Agüero L. 1999. Análisis de la consanguinidad y estructura genealógica en un rebaño del cerdo Criollo Cubano. *Rev. Computarizada de Producción Porcina*. Vol:6, No:1.
33. Sneath, P. H. A. and Sokal, H. H. 1973. *Numerical taxomomy*. Freeman Ed. San Francisco. 57p.
34. Velásquez, F., Barba, C., Pérez, E., Delgado, J.V. 1998. El cerdo Negro Criollo Cubano: origen, evolución y situación actual. *Archivos de Zootecnia*. 47: 561-564.
35. Weir, B.S., Cockerham, C. C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, 1358-1370.
36. Wright, S. 1969. The Theory of gene frecuencies. Evolution and genetics of populations. Vol. II. Pp. 291-293.

ANEXOS:

ENTREPELADO  
LAMPÍÑO  
DUROC  
HAMPSHIRE

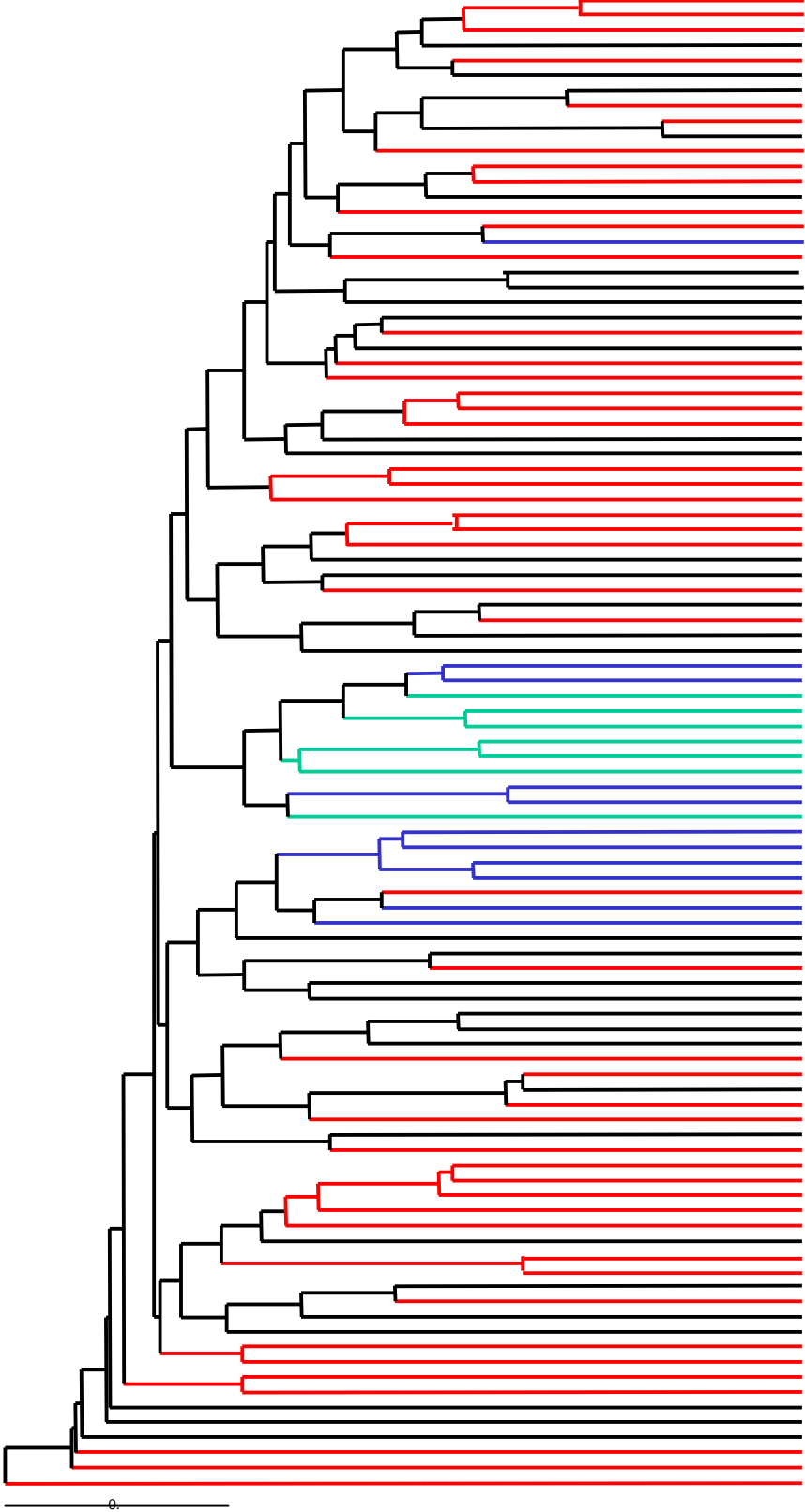


Gráfico 1. Representación gráfica del árbol de distancias individuales DSA construido por el método UPGMA

**Gráfico 2**

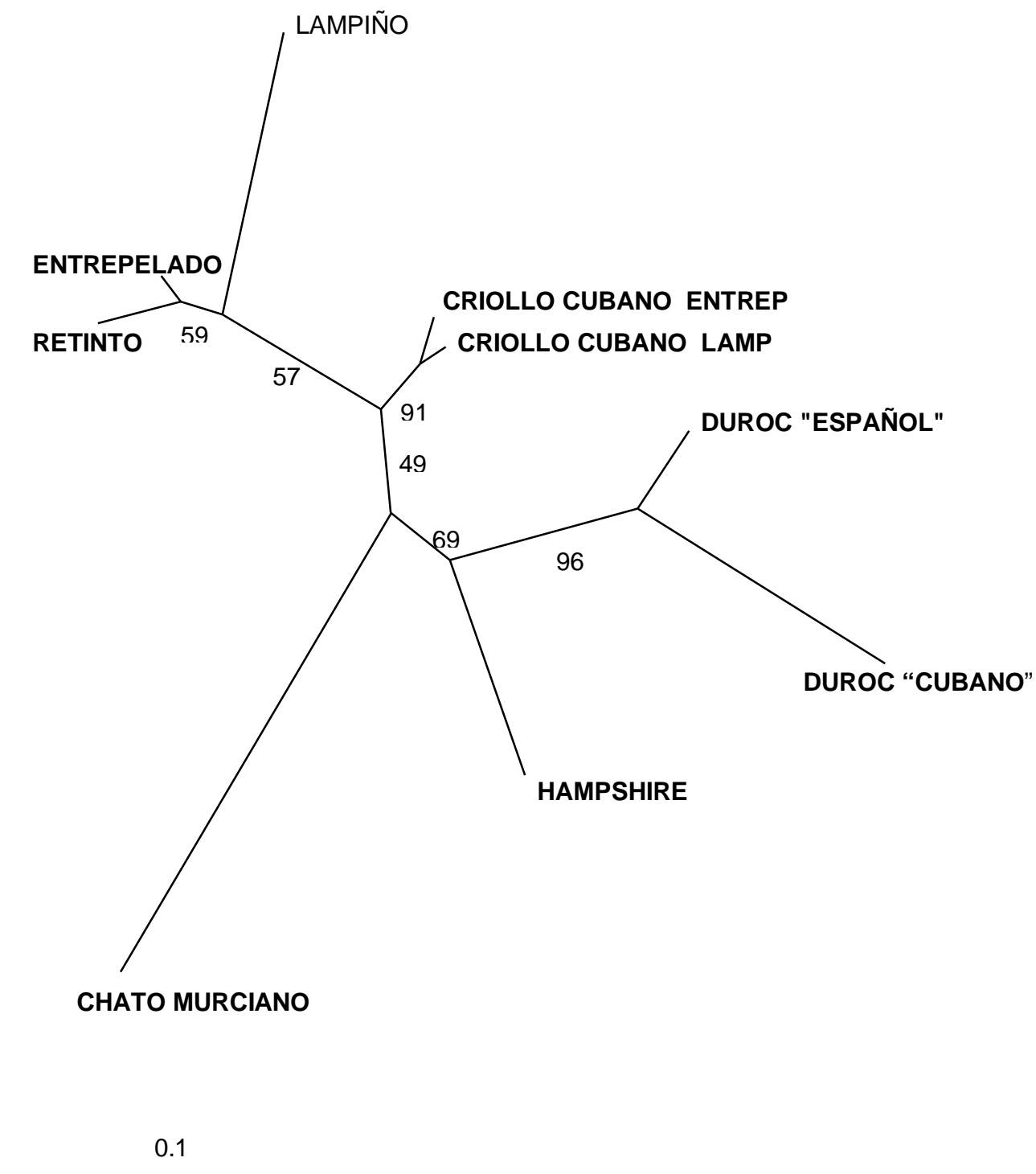
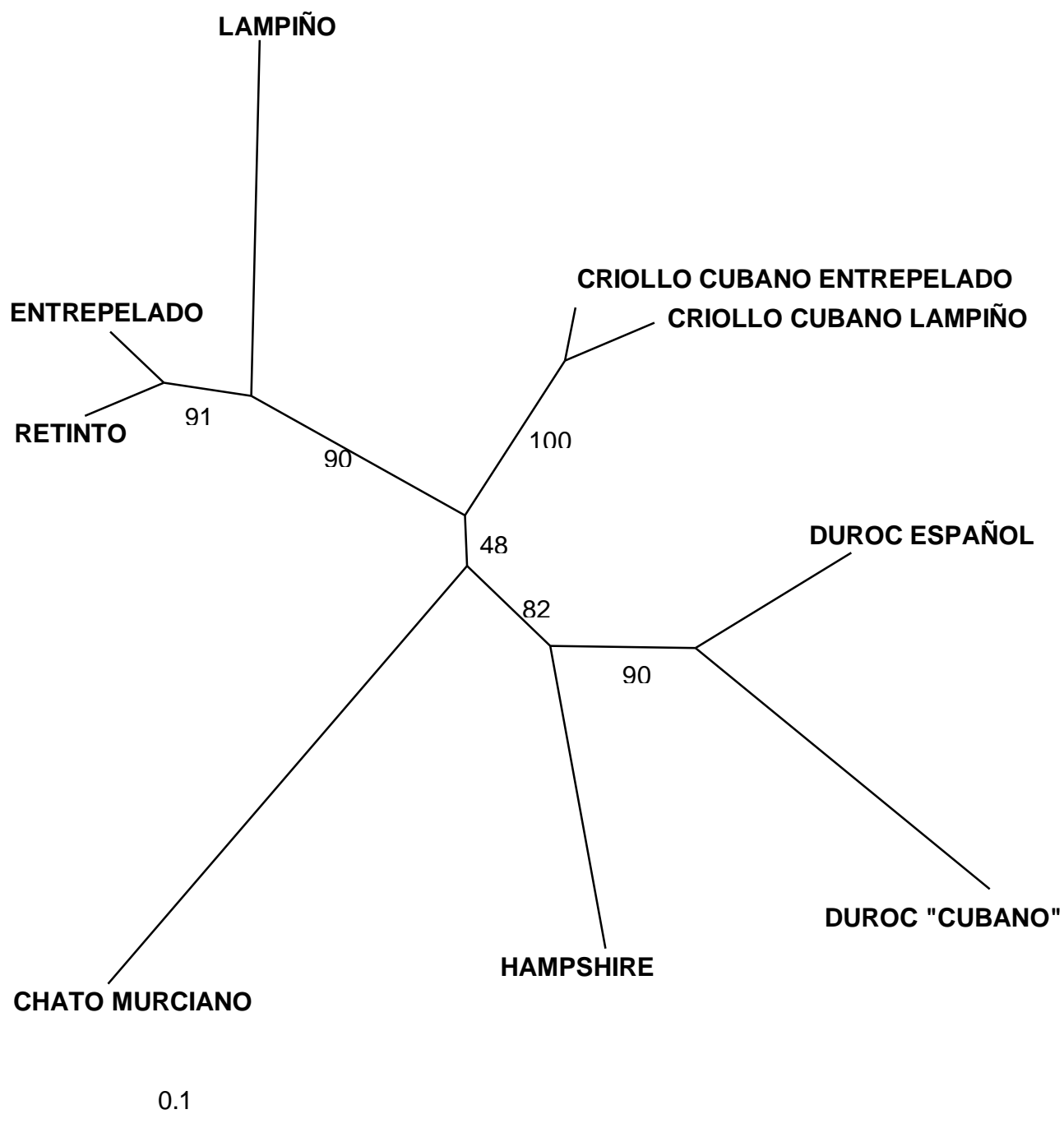


Gráfico 3



### ***Datos de los Autores.***

#### ***Autor Principal:***

- Nombres y Apellidos: DrC. Eliecer Pérez Pineda.
- Edad: 44 años.
- Calificación: Doctor en Ciencias veterinarias.
- Cargo: Profesor disciplina Salud y Producción Animal.
- Dirección particular y teléfono: Ave. Jinmy Hirzel no. 60 e/ 8 y 10, Rpto Siboney, Bayamo, Granma.
- Integración Revolucionaria: PCC, CDR, CTC.
- Número de carné de identidad: 62072210009.
- Por ciento de participación: 60%.

#### ***Otros autores***

- Nombres y Apellidos: DrC. Francisco Velázquez Rodríguez.
- Edad: 57 años.
- Calificación: Doctor en Ciencias veterinarias.
- Cargo: Profesor disciplina Salud y Producción Animal.
- Dirección particular y teléfono: Calle 26 de Julio, e/ Lora y Masó.
- Integración Revolucionaria: PCC, CDR, CTC.
- Número de carné de identidad: 48101503200.
- Por ciento de participación: 20%.

#### ***Otros autores***

- Nombres y Apellidos: Dra. MV. Denia Segura Arce.
- Edad: 36 años.
- Calificación: Doctora en Medicina Veterinaria.
- Cargo: Control de la calidad de Productos lácteos.
- Dirección particular y teléfono: Ave. Jinmy Hirzel no. 60 e/ 8 y 10, Rpto Siboney, Bayamo, Granma.
- Integración Revolucionaria: CDR, CTC.
- Número de carné de identidad: 69113012090.
- Por ciento de participación: 10%.

#### ***Otros autores***

- Nombres y Apellidos: Dr. MV. Luis Aguilar Guerrero.
- Edad: 26 años.
- Calificación: Doctor en Medicina Veterinaria.
- Cargo: Profesor de la disciplina salud y Producción Animal.
- Dirección particular y teléfono: Ave. Jinmy Hirzel no. 61 e/ 8 y 10, Rpto Siboney, Bayamo, Granma.
- Integración Revolucionaria: UJC, CDR, CTC.
- Número de carné de identidad: 80081920627.
- Por ciento de participación: 10%.