

Exploración inicial de la diversidad genética del cerdo criollo venezolano usando RAPD

Rafael Galíndez^{1*}, Catalina Ramis² y Luis Angulo²

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

²Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 4579. Maracay 2101. Venezuela

RESUMEN

Con el objetivo de analizar la diversidad genética del cerdo criollo venezolano se colectaron muestras de folículos pilosos de 48 individuos de los tipos negro, rojo y manchado, localizados en La Tranca (Barinas), Masaguaral, El Socorro y Guayabal (Guárico) y Capanaparo (Apure). Se utilizaron los cebadores RAPD OPA-2; 13; 20 y OPC-2; 5. Se generó una matriz de presencia/ausencia de bandas a través de electroforesis, a partir de la cual se determinó el porcentaje de loci polimórficos y el análisis de agrupamiento (UPGMA) basado en la distancia de Jaccard. Se produjeron entre 7 y 14 bandas/cebador, con un promedio de 10,4. En Masaguaral se observó 85% de polimorfismo, en El Socorro 77%, en La Tranca 77%, en Capanaparo 65% y en Guayabal 71%. En Masaguaral se observaron dos bandas exclusivas (OPA-20, 9500 pb; OPC-2, 8700 pb); en Capanaparo una (OPA-2, 2800 pb) y en Guayabal dos (OPA-2, 1500 pb; OPA-20, 2900 pb). Se evidenció 92, 83 y 85% de polimorfismo en los cerdos negros, rojos y manchados, respectivamente. Se observaron los siguientes fragmentos exclusivos en los cerdos negros (OPA-2, 4000 pb; OPA-20, 9500 pb; OPC-2, 5200 pb), en los rojos (OPA-20, 2900 pb) y en los manchados (OPA-2, 1500, 2800 pb). El UPGMA mostró que no existe separación clara entre poblaciones. Se evidencia disponibilidad de variabilidad genética para los programas de mejoramiento.

Palabras clave: dendogram, distancia genética, distancia de Jaccard.

Initial exploration of the genetic diversity of Venezuelan creole pig by RAPD

ABSTRACT

With the objective to analyze the genetic diversity of Venezuelan creole pigs, samples of hairs were collected from 48 animals of black, red and spotted varieties; localized at La Tranca (Barinas); Masaguaral, El Socorro and Guayabal (Guárico) and Capanaparo (Apure). The primers OPA-2; 13; 20 y OPC-2; 5 and electrophoresis was used to make and to generate a matrix of presence/absence of bands, and to determine percentage of polymorphic loci and meeting analysis (UPGMA) based in Jaccard's distance. They were generated between 7 and 14 bands/primers, with average of 10.4. Masaguaral there was observed 85% of polymorphism, El Socorro 77%, La Tranca 77%, Capanaparo 65% and Guayabal 71%. In Masaguaral there were observed two exclusive bands (OPA-20, 9500 pb; OPC-2, 8700 pb); one band Capanaparo (OPA-2, 2800 pb) and two bands of Guayabal (OPA-2, 1500 pb; OPA-20, 2900 pb). It was demonstrated 92, 83 y 85% of polymorphism in black, red and spotted pigs, respectively. It was observed exclusive fragments following in black pigs (OPA-2, 4000 pb; OPA-20, 9500 pb; OPC-2, 5200 pb), reds (OPA-20, 2900 pb) and spotted (OPA-2, 1500, 2800 pb). The UPGMA showed that there is no

*Autor de correspondencia:

E-mail: galindezr@agr.ucv.ve

clear separation between populations, which indicates the distribution of the genetic variability between the analyzed individuals, showing therefore a genetic wealth available for the improvement programs.

Key words: dendrogram, genetic distance, Jaccard's distance.

INTRODUCCIÓN

Los cerdos criollos de América Latina se consideran descendientes directos del cerdo Ibérico (Hurtado y González, 2000), que por la adaptación a las condiciones ecológicas y nutricionales de la región presentan variantes con respecto al actual cerdo Ibérico. Como consecuencia de estas adaptaciones se han reportado tres grupos de cerdos criollos a saber: negro, rojo y manchado (Hurtado, 2004; González, 2007). Asimismo, los autores señalan que el cerdo criollo es un recurso genético poco estudiado, debido al escaso interés económico que genera, la ausencia de políticas nacionales y carencia de tecnologías para su caracterización. Con respecto a este último aspecto, se encuentran disponibles metodologías de evaluación modernas muy precisas; dentro de ellas, los estudios de ADN han sido reconocidos como una herramienta muy potente para estudiar la diversidad genética de las poblaciones (Toro *et al.*, 1998). Las dificultades en la captura de estos individuos que incluyen su amplia distribución en sabanas llaneras y su temperamento poco dócil, constituyen una limitante a la hora de realizar las mediciones. En este sentido, la disponibilidad de una metodología de colección de muestras que permita su conservación por un período largo de tiempo, y exigencias mínimas en cuanto a reactivos y equipos, representa un punto crítico para el estudio de estos animales.

Muchas propuestas han establecido metodologías para disponer y conservar los tejidos biológicos animales para su posterior análisis genético – molecular, incluyendo plumas, piel, semen, sangre y folículos pilosos, entre otros. Los folículos pilosos han sido utilizados en muchas investigaciones como tejido fuente para la extracción de ADN y subsiguientes análisis moleculares (Ramos *et al.*, 2003; Vega - Pla *et al.*, 2003; Martínez *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2004; Pérez, 2005; Delgado *et al.*, 2005). La metodología basada en el análisis de poblaciones apoyada en marcadores moleculares RAPD está siendo ampliamente utilizada en estudios de conservación de razas y especies. Esta metodología es relativamente simple, de bajo costo y no requiere del conocimiento específico de las poblaciones a estudiar, lo que ayuda en la elección de las estrategias de preservación de especies y razas en peligro de extinción (Serrano *et al.*, 2005). Los estudios de diversidad genética en animales de interés zootécnico han conducido a la separación y definición de los vacunos criollos del Uruguay, Brasil, España, además ovinos criollos de Turquía y cerdos criollos chinos, entre otras especies.

Dichos estudios han evaluado diversos grupos de animales criollos y han usado las razas comerciales dentro de cada especie como referencia. los RAPD se han utilizado con anterioridad para el estudio de la diversidad genética en cerdos, contribuyendo a aclarar la teoría de que los dos grupos de cerdos criollos chinos denominados Taihu, los cuales descienden de las líneas Mizhu y Meishan, son genéticamente distintos. Este estudio conducido por Chang *et al.* (1999) reveló que dos grupos de cerdos criollos chinos estudiados son genéticamente similares, con un promedio de distancia genética de 0,052. En el trabajo también se señala que estos cerdos están genéticamente muy cercanos a los cerdos salvajes chinos. Otra investigación realizada en dos grupos de cerdos criollos miniatura chinos utilizando RAPD, permitió la obtención de algunos índices de evaluación genética, encontrándose que los porcentajes de loci polimórficos dentro de cada grupo resultaron en 30,9 y 29,2%, con un promedio general considerando las dos poblaciones en conjunto de 25,7%. Concluyen los autores que los dos grupos son genéticamente cercanos, puesto que la distancia genética calculada entre estos es de 0,067 (Wu *et al.*, 2001). En ese contexto el objetivo de la presente investigación fue estudiar la diversidad genética de tres tipos de cerdos morfológicos de cerdos criollos presentes en cinco localidades venezolanas.

METODOLOGÍA

Muestras

Se colectaron muestras de folículos pilosos de los tres grupos de cerdos criollos venezolanos (negro, rojo y manchado) ubicados en cinco localidades: Hato La Tranca (n=9), del municipio Arismendi del estado Barinas, Hato Masaguaral (n=10) y población El Socorro (n=9), del municipio Francisco de Miranda, Guayabal (n=10) del municipio San Gerónimo de Guayabal del estado Guárico y Capanaparo (n=10), municipio Achaguas del estado Apure. Para tal fin se consideraron animales combinados en color de capa y sexo, de cada uno de los grupos de cerdos criollos venezolanos presentes en las localidades descritas, para un total de 48 individuos.

Extracción de ADN

Para la extracción de ADN se procedió a aplicar el protocolo de Fraga *et al.* (2004), el cual fue modificado y estandarizado en el laboratorio del Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA) de la Universidad Central de Venezuela, para adaptarlo

a la presente investigación. El protocolo se describe a continuación: se tomaron 60 pelos de cada cerdo y se lavaron con etanol al 70% y agua destilada; se cortaron los pelos aproximadamente a unos 0,5 cm del folículo piloso y se trituraron durante 20 min en un mortero de cerámica (cada muestra por separado), previa adición de nitrógeno líquido. Luego se introdujeron en tubos de minicentrífuga de 2,0 mL debidamente identificados; se añadieron 300 μL de tampón de extracción (1,0 M/Tris-HCl/pH 8,0; 2,5 M/ NaCl; 0,5 M/EDTA; 10% SDS), triturándose nuevamente el material seleccionado con un émbolo contra las paredes del tubo Eppendorf durante 20 min; posteriormente se añadieron 150 μL de acetato de sodio 3M a pH 5,2 y se colocaron los tubos de minicentrífuga a -20°C durante 20 min., luego de lo cual se sometieron los viales a centrifugación (12 000 rpm) durante 10 min y los sobrenadantes se transfirieron a tubos Eppendorf limpios e igualmente identificados a los cuales se les añadió un volumen igual a lo extraído de isopropanol, conservándolos en tubos a -20°C por un tiempo mínimo de 20 min. Cumplido este paso, se sometieron los viales a centrifugación (12 000 rpm) durante 30 min y se eliminó el remanente de cada tubo; se lavó el contenido que quedó con 150 μL de etanol al 70% y se agitó; seguidamente se centrifugó durante 5 min a 12 000 rpm, eliminándose el sobrenadante nuevamente. Los tubos se dejaron abiertos al aire libre hasta que se comprobó que el precipitado estaba totalmente seco. Por último, el ADN se suspendió en 100 μL de tampón TE (1,0 M/Tris-HCl/pH 8,0; 0,5 M/EDTA/pH 8,0) y se conservaron a una temperatura de 4°C . Se tomaron las alícuotas de ADN correspondientes y el resto se almacenó a -20°C .

Visualización de la calidad y cantidad de ADN extraído

El ADN se visualizó en geles de agarosa al 0,8% en buffer TBE 0,5 X; pH 8,3 (0,5 M/Tris – base, 1,25 mM/ EDTA, 0,43 M/ácido bórico), teñido con bromuro de etidio 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. La cantidad de ADN contenido en cada muestra se determinó por comparación con una concentración conocida de ADN Lambda, cotejando la intensidad de tinción de las muestras contra el marcador de concentración conocida (Einspanier, 1999).

La electroforesis se realizó durante una hora, a un voltaje constante de 100 voltios, usando como fuente de poder un equipo marca E – C Apparatus Corporation. Las muestras se observaron en un transiluminador de luz ultravioleta (Fisher Biotech, 312 nm) y en un analizador de imágenes (Biorad), por medio del cual se obtuvieron las imágenes digitales.

Amplificación de RAPD (reacción en cadena de la polimerasa, PCR)

El medio de reacción se preparó para un volumen

final de 15 μL , conteniendo los siguientes componentes: ADN (20 $\text{ng}/\mu\text{L}$)/1,0 μL ; Solución buffer (5X)/3,0 μL ; MgCl_2 (25 mM)/1,5 μL ; dNTP (10 mM)/0,8 μL ; BSA (10 mg/mL)/1,0 μL ; Primers (10 μM)/1,0 μL ; Taq DNA polimerasa (5 UI/ μL)/0,5 μL ; Agua 6,2 μL . La amplificación de los fragmentos por la técnica de PCR se llevó a cabo en un equipo termociclador marca Biorad, modelo PTC-100, utilizando el siguiente programa: 94°C por 5 min; 45 ciclos a 94°C por 1 min; 36°C por 30 seg; 72°C por 2 min; finalmente 72°C por 7 min.

Prueba de polimorfismo de RAPD

Inicialmente se probaron 18 iniciadores RAPD: OPC-1, OPC-2, OPC-5, OPC-7, OPC-9, OPC-10, OPC-11, OPC-12, OPC-13, OPC-14, OPC-17, OPC-19, OPC-20, OPA-2, OPA-7, OPA-9, OPA-13 y OPA-20. Para tal fin, se tomaron muestras al azar de folículos pilosos de cinco cerdos criollos venezolanos diferentes y se procedió a la amplificación y visualización de los productos de PCR en geles de agarosa al 3%, teñidos con bromuro de etidio. Luego de la prueba, se escogieron los RAPD OPA-2: 5'-TGCCGAGCTG-3', OPA-13: 5'-CAGCACCCAC-3', OPA-20: 5'-GTTGCGATCC-3', OPC-2: 5'-GTGAGGCGTC-3' y OPC-5: 5'-GATGACCGCC-3' por mostrar mejor resolución y alto polimorfismo. Finalmente se aplicaron los protocolos de amplificación estandarizados, anteriormente descritos, para las 48 muestras de cerdos criollos.

Análisis estadístico

Sobre la base de las imágenes obtenidas para los fragmentos amplificados RAPD en geles de agarosa 3%, se construyó una matriz de presencia – ausencia de bandas (0,1). Dicha matriz sirvió para el cálculo de algunos de los índices que reflejan diversidad genética: 1) Porcentaje de polimorfismo, 2) Índice de similitud de Jaccard, 3) Análisis de agrupamiento (dendrograma) usando el método de la distancia promedio no ponderada UPGMA (Vicente de *et al.*, 2004), a partir del Índice de similitud de Jaccard y 4) Análisis de coordenadas principales. Se utilizó el programa estadístico Past versión 2.12 (Hammer *et al.*, 2001) para realizar los cálculos y construir los gráficos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se presenta el número de bandas por iniciador, para cada localidad, obteniéndose un promedio de 10,4 bandas por cebador con un total de 52 bandas (total de bandas, para todos los cebadores, y localidades). En la población de Masaguaral, 46 (85%) bandas resultaron polimórficas, en El Socorro se observaron 42 (77%), en La Tranca 42 (77%), en Capanaparo 35 (65%) y en Guayabal 37 (71%). Estos resultados

Cuadro 1. Polimorfismo observado por localidad usando los cinco cebadores RAPD seleccionados para el análisis de diversidad genética del cerdo Criollo venezolano.

Localidad	Tamaño de muestra	Fragmentos observados por cebador					Bandas polimórficas (%)
		OPA - 13	OPA - 2	OPA - 20	OPC - 2	OPC - 5	
Masaguaral	10	9	9	13	9	6	85
El Socorro	9	8	8	12	7	7	77
La Tranca	9	8	8	12	7	7	77
Capanaparo	10	7	8	12	5	3	65
Guayabal	10	4	10	11	6	6	71

superan en todos los casos a lo manifestado por Yang *et al.* (2004) quienes encontraron 15% de polimorfismo en 100 cebadores RAPD utilizados.

Por otra parte, como se visualiza en la Figura 1, se obtuvieron bandas exclusivas en ciertas poblaciones. En Masaguaral se observó una banda exclusiva del cebador OPA - 20 y una banda del cebador OPC - 2, las cuales no se manifestaron en las otras poblaciones (Cuadro 2). En el caso de los individuos de la población de Capanaparo, estos manifestaron una banda no presente en las otras poblaciones. Esta banda fue evidenciada al amplificar el cebador OPA - 2. La misma situación se presentó en los cerdos de Guayabal, que en este caso poseían una banda única para el cebador OPA - 2 y una banda única para el cebador OPA - 20.

El peso molecular aproximado de las bandas observadas se muestra en el Cuadro 2. Los individuos de El Socorro y La Tranca no mostraron un patrón de bandas único. La presencia de bandas únicas en una población sugiere que la deriva genética pudiese ser responsable de la situación observada, pues el patrón de bandas exclusivo en cada localidad determina una composición genética particular en estos sitios, constituyendo los cebadores (RAPD) utilizados, marcadores útiles a ser usados por localidad (Parejo *et al.*, 1998). A pesar que estas bandas únicas son una herramienta útil para diferenciar los individuos de acuerdo a la localidad de origen, es recomendable, tal y como señalaron Parejo *et al.* (1998), probar un número superior de marcadores e individuos, para lograr una mayor precisión en los estudios de diferenciación, e inclusive incorporar algunas razas mejoradas como patrones de comparación.

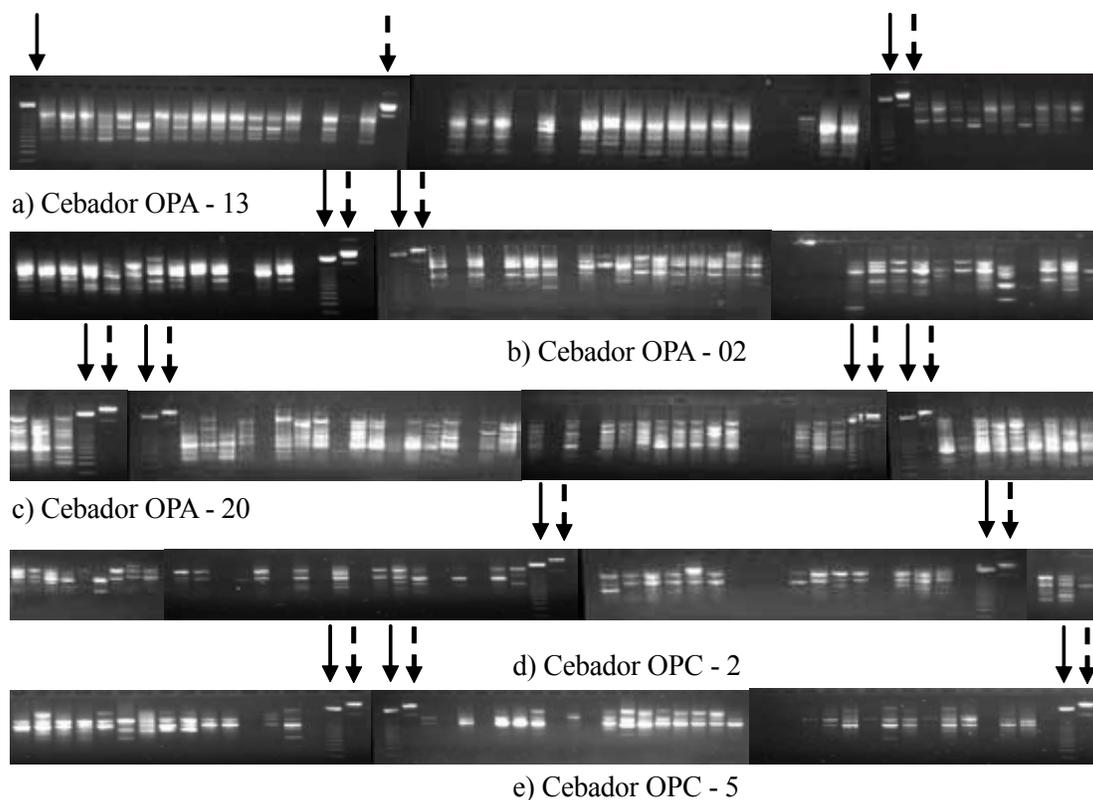
Cuando los resultados son analizados dentro de cada tipo morfológico, es decir, el patrón en las bandas dentro de los cerdos criollos negros, rojos y manchados, se evidencia que de las 52 bandas manifestadas, 48 (92%) fueron polimórficas dentro de la población de cerdos negros, 43 (83%) en los rojos y 44 (85%) en los manchados.

Al igual que el análisis realizado para las localidades, dentro de los tipos del cerdo criollo venezolano que se definieron por el color del pelaje, se pueden observar fragmentos que se presentan exclusivamente dentro de cada una de estas. Los individuos negros pueden ser caracterizados usando los RAPD OPA - 2, OPA - 20 y OPC - 2, ya que se observó una banda única para cada uno de estos cebadores que no estaba presente en los otros tipos de cerdos. Asimismo, los cerdos rojos pueden ser separados por un fragmento observado con el primer OPA - 20 y otro observado con el iniciador OPC - 2, mientras que los individuos manchados son caracterizados con dos fragmentos presentes en el patrón de bandas del cebador OPA - 2 (Cuadro 3).

En tal sentido, la ratificación de los fragmentos observados como exclusivos en estas poblaciones debe realizarse con un número superior de individuos y de cebadores.

La Figura 2 muestra el dendrograma UPGMA de los individuos de las poblaciones estudiadas, el cual se construyó basado en el índice de similitud de Jaccard. En la misma se evidencia que no existe una separación clara entre los individuos de acuerdo a la localidad de origen. Sin embargo, se observa la formación de pequeños subgrupos en las poblaciones de Guayabal, Masaguaral y Capanaparo; situación que pudiese ser un indicativo de fijación de genes. Los resultados coinciden con un estudio realizado por Martínez *et al.* (2003), quienes concluyeron que no existía una clara separación entre las distintas variedades de cerdos Ibéricos.

Asimismo, resalta un subgrupo pequeño formado por los individuos de El Socorro y La Tranca, localidades muy cercanas; la primera ubicada en el Municipio Francisco de Miranda del Edo. Guárico y la segunda en el municipio Arismendi del Edo. Barinas. Estas localidades están separadas por una barrera geográfica natural conformada por el río Portuguesa; sin embargo, es posible que haya sido superada por el traslado de estos cerdos de un lado a otro del río por los campesinos que habitan en



*Las flechas de línea continua señalan los marcadores de concentración conocida 1 Kb; flecha de línea punteada 50pb.

Figura 1. Bandas RAPD de 48 cerdos Criollos venezolanos, obtenidas por los cebadores: a) OPA-13, b) OPA-2, c) OPA-20, d) OPC-2 y e) OPC-5.

esta zona, ocurriendo probablemente intercambio de genes entre los grupos de animales estudiados. La tendencia de formación de subgrupos sólo es válida para los individuos de Capanaparo cuando se realiza el análisis de coordenadas principales, considerando las coordenadas 1 y 2, las cuales explican el 16,9% de la variabilidad acumulada, donde es notorio que los individuos de esta localidad tienden a formar un grupo (Figura 3).

El resto de los individuos, inclusive algunos de Capanaparo, se ubican mezclados en un solo grupo

genético. De las poblaciones consideradas en el análisis, precisamente Capanaparo es la que se encuentra geográficamente más alejada de las otras, encontrándose varias barreras naturales presentes (ríos Apure, Arauca y Matiyure). Aún cuando se observa la tendencia descrita, esta no es concluyente, debido al bajo porcentaje de la variabilidad explicada por las dos primeras coordenadas, por lo que algunos individuos de Capanaparo se encuentran genéticamente muy cercanos a los individuos de las otras localidades, pudiendo inferirse que existe migración de animales de esta localidad a las otras, proceso que ocurre

Cuadro 2. Bandas de los cebadores RAPD utilizados el análisis de la divergencia genética de los cerdos criollos venezolanos, con presencia exclusiva por localidad.

Cebador/Locus	Peso Molecular (pb)	Localidad (+)		
		Masaguaral	Capanaparo	Guayabal
OPA - 2/11	1500	Ausente	Ausente	Presente (10,0%)
OPA - 2/12	2800	Ausente	Presente (12,5%)	Ausente
OPA - 20/1	9500	Presente (11,1%)	Ausente	Ausente
OPA - 20/14	2900	Ausente	Ausente	Presente (10,0%)
OPC - 2/4	8700	Presente (30,0%)	Ausente	Ausente

(+) : Frecuencia de presentación.

Cuadro 3. Bandas de los cebadores RAPD utilizados para el análisis de la divergencia genética de los cerdos criollos venezolanos, con presencia exclusiva por tipo morfológico.

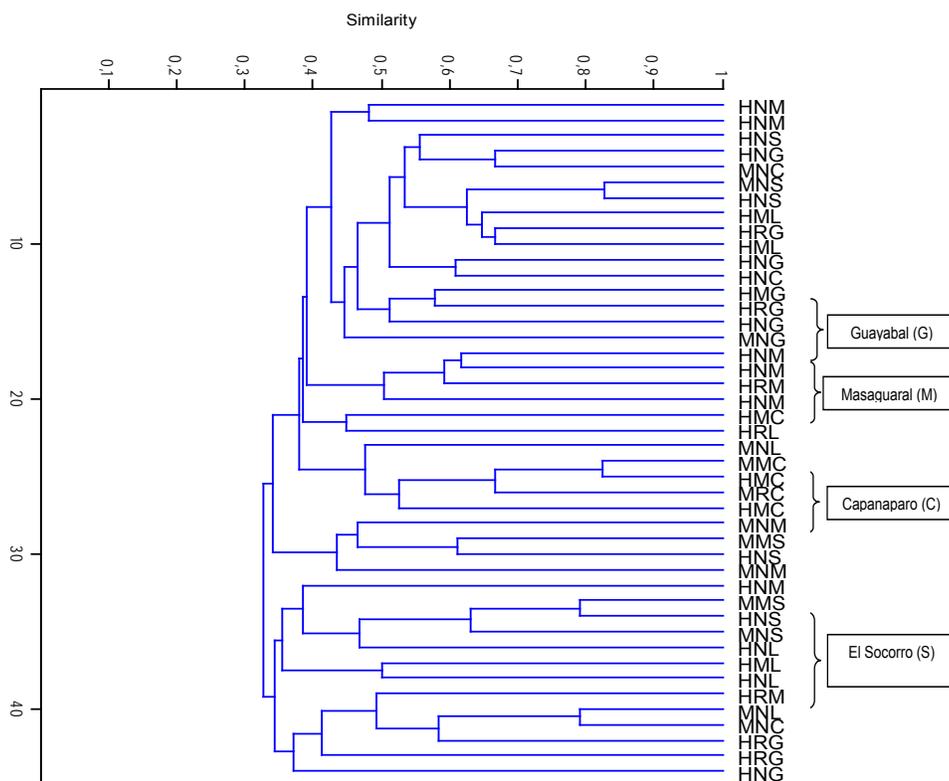
Cebador/Locus	Peso Molecular (pb)	Tipo morfológico de cerdos criollos Venezolanos (+)		
		Negro	Rojo	Manchado
OPA – 2/10	4000	Presente (8,7%)	Ausente	Ausente
OPA – 2/11	1500	Ausente	Ausente	Presente (11,1%)
OPA – 2/12	2800	Ausente	Ausente	Presente (11,1%)
OPA – 20/1	9500	Presente (4,5%)	Ausente	Ausente
OPA – 20/14	2900	Ausente	Presente (14,3%)	Ausente
OPC – 2/10	5200	Presente (9,1%)	Ausente	Ausente

(+) : Frecuencia de presentación.

en las otras localidades de igual manera.

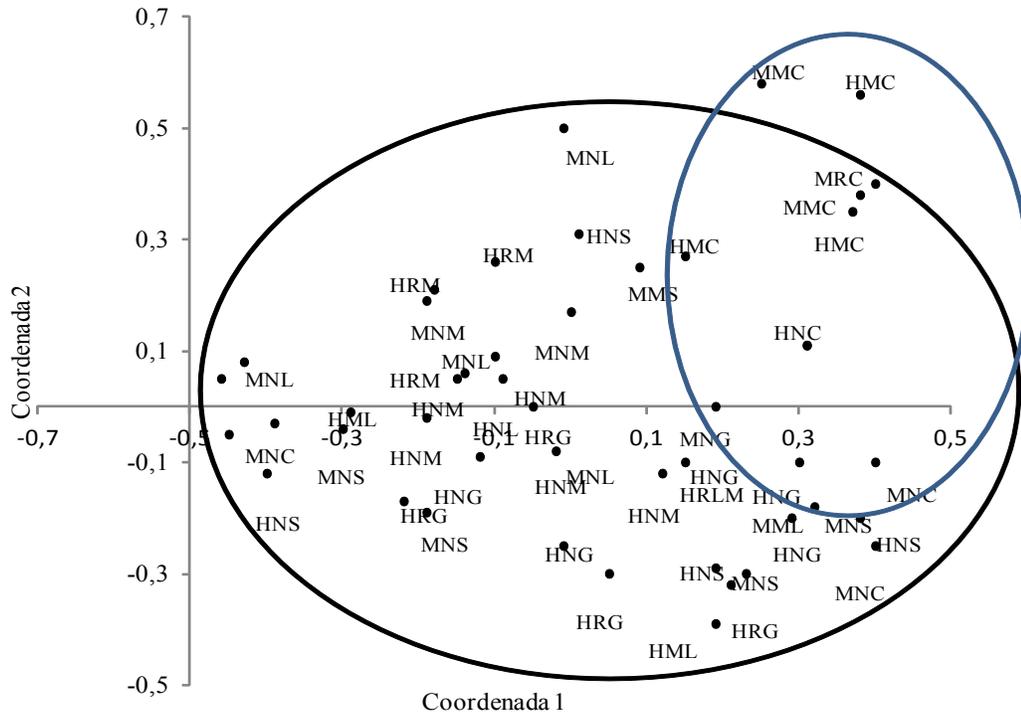
Los resultados permiten evidenciar que no existe una clara tendencia de diferenciación entre poblaciones o entre tipos morfológicos. Dos teorías pudiesen esgrimirse al respecto: 1) aunque el origen de las poblaciones

introducidas al país, se pudiera originar de distintos grupos genéticos de cerdos ibéricos, la migración natural o artificial de individuos a los otros lugares, con la posterior reproducción, permitieron el intercambio de grupos de genes, disminuyendo las diferencias entre las poblaciones y 2) los individuos originarios traídos por lo españoles en



*Primera letra define el sexo: macho (M), hembra (H); segunda letra define el color: negro (N), rojo (R), manchado (M); tercera letra describe la localidad: Masaguara (M), El Socorro (S), Guayabal (G), La Tranca (L) y Capanaparo (C).

Figura 2. Dendrograma de agrupamiento de los cerdos criollos venezolanos, construido utilizando el método UPGMA, a partir del índice de similitud de Jaccard.



*Primera letra define el sexo: macho (M), hembra (H); segunda letra define el color: negro (N), rojo (R), manchado (M); tercera letra describe la localidad: Masaguaral (M), El Socorro (S), Guayabal (G), La Tranca (L) y Capanaparo (C).

Figura 3. Análisis de agrupamiento de los cerdos criollos venezolanos a partir del patrón de bandas de los RAPD seleccionados, usando el método de coordenadas principales.

el proceso de colonización pertenecieron a una pequeña muestra de genes, considerándose individuos fundadores, principalmente presentes en el sur de la Península Ibérica, siendo estos distribuidos por el territorio venezolano en la medida que fue ocupado por los colonizadores, lo que permite explicar la semejanza entre localidades y tipos morfológicos. Esta última teoría fue considerada por Lemus - Flores *et al.* (2001) para tratar de explicar el parecido genético entre distintas poblaciones del cerdo Pelón Mexicano. Entre las distintas variedades definidas por color se observa una situación similar, es decir, no se presenta una clara diferenciación entre estos; esta retracción probablemente causada por la reproducción no controlada entre individuos de las distintas variedades, lo que conlleva a que compartan una estructura genética similar. Estas conclusiones habían sido esgrimidas con anterioridad por Ren *et al.* (2002), para explicar la cercanía genética entre las razas nativas chinas Nanchang White, Yushan Black y Yanshan Black.

Sin embargo, se obtuvieron diferencias entre individuos. Al respecto, la matriz de similitud obtenida con el índice de similitud Jaccard refleja que la cercanía de los individuos pertenecientes a las distintas zonas osciló

entre 0,09 (individuos de La Tranca y Guayabal) y 0,83 (individuos presentes en El Socorro). Asimismo, es de resaltar que en promedio para todos los individuos los índices de Jaccard están cercanos a 0,40. Valores similares se han señalado para las distancias genéticas en un estudio de cerdos autóctonos europeos que consideró razas mejoradas y cerdos silvestres (Laval *et al.*, 2000). Sin embargo, a fin de verificar el nivel de variabilidad genética es necesario incluir en futuros estudios individuos de otra procedencia genética, de manera de no sobreestimar las diferencias entre los individuos estudiados.

Dos estudios de relaciones genéticas entre variedades de cerdos criollos chinos (Taihu, Bama y Guizhou miniatura) muestran una menor diversidad entre estos, al reportar un índice de distancia genética entre líneas que osciló entre 0,05 y 0,12 (Chang *et al.*, 1999; Wu *et al.*, 2001), concluyéndose al igual que en el presente estudio, que existe muy poca diversidad genética entre las variedades estudiadas con esta metodología. Situaciones particulares y lógicas se observan en el análisis, puesto que la mayor divergencia (menor similitud) descrita entre individuos de La Tranca y Guayabal es de esperar, debido a que estas localidades son lejanas, estando la primera en el edo.

Barinas y la segunda en el edo. Guárico. Por otra parte, el río Portuguesa se ubica entre estos dos sitios representando una barrera natural a la migración de los individuos. Por el contrario, los individuos más parecidos se encuentran en la misma población (El Socorro), inclusive pudiendo haber parentesco entre estos individuos, pero no se cuenta con información exacta de los árboles genealógicos o pedigrí.

Los resultados reflejan que no existe una clara diferenciación genética entre poblaciones y tipos morfológicos; sin embargo, es probable que como consecuencia de la utilización de un número reducido de individuos y marcadores no hubo una buena separación de grupos, por lo tanto debe realizarse un estudio más profundo aumentando la cantidad de cerdos y marcadores RAPD.

CONCLUSIONES

La amplificación de fragmentos al azar (RAPD) a partir de cinco iniciadores permitió obtener un total de 52 bandas con un promedio de 10,4 bandas por iniciador y alto polimorfismo por localidad. Las bandas exclusivas observadas en la localidad: dos presentes en la localidad de Masaguaral, en Capanaparo y en Guayabal, pueden servir como identificadores de los cerdos de estas localidades. Situación similar se presenta dentro de las variedades de color, observándose tres bandas exclusivas para los cerdos negros, una para los cerdos rojos y dos para los cerdos manchados. No se encontró un patrón de diferenciación genética debido a localidad o tipo morfológico; por el contrario; los resultados indican la distribución de la variabilidad genética entre los individuos analizados, mostrando así la disponibilidad de variabilidad genética para los programas de mejoramiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chang, Q.; K. Zhou; Y. Wang; Z. Zhang; X. Cao. 1999. RAPD analysis of genetic diversity and phylogenetic relationship of the Taihu pigs. *Yi Chuan Xue Bao* 26: 480 – 488.
- Delgado, R.; N. Torrento; N. Trilla; E. Collell; J. Ballester; J. Tibau. 2005. Aplicación de microsátelites en la identificación genética de reproductores y en el estudio de parentesco en poblaciones porcinas de selección de las razas Pietrain y Duroc. Disponible en: <http://acteon.webs.upv.es/> y pdf [Consultado: Agosto, 2007].
- Einspanier, R. 1999. Biología y genética molecular aplicada a la reproducción y producción animal. Curso Internacional de Postgrado. Laboratorio de Fisiología y Endocrinología Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción. Chillan, Chile. 29 p.
- Fraga, J.; J. Rodríguez; O. Fuentes; M. Castex; A. Fernández – Calienes. 2004. Comparación entre 5 métodos para la extracción de ADN de Triatomíneos: su utilización en la técnica de ADN polimórfico amplificado al azar. *Rev. Cub. Med. Trop.* 56(3): 208 – 213.
- González, C. 2007. Porcinos. *In: González, E. y F. Bisbal (Eds.). Los Recursos Zoogenéticos de Venezuela. Ministerio del Poder Popular para el Ambiente. Caracas. Venezuela. pp. 36 – 49.*
- Hammer, Q.; D. Harper; P. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): [Palaeo-electronica.org/2001-1/past/past.pdf](http://palaeo-electronica.org/2001-1/past/past.pdf).
- Hurtado, E. 2004. Evaluación preliminar del cerdo criollo y los sistemas de producción en los estados Apure y Guárico de Venezuela. Tesis Doctoral. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela. 118 p.
- Hurtado, E.; C. González. 2000. El cerdo criollo de Venezuela. V Congreso Iberoamericano de Razas Autóctonas y Criollas. I Taller Internacional de Cerdos de Origen Ibérico. La Habana, Cuba. p 256 - 260.
- Laval, G.; N. Iannuccelli; C. Legault; D. Milan; M. Groenen; I. Giuffra; L. Andersson; P. Nissen; C. Jorgensen; P. Beeckmann; H. Geldermann; J. Foulley; C. Chevalet; L. Ollivier. 2000. Genetic diversity of eleven European pig breeds. *Gen. Selec. Evol.* 32: 187 - 203.
- Lemus-Flores, C.; R. Ulloa-Arvizu; M. Ramos-Kuri; F. Estrada; R. Alonso. 2001. Genetic analysis of Mexican hairless pig populations. *J. Anim. Sci.* 79: 3021 - 3026.
- Martínez, A.; J. Delgado; J. Vega - Pla; F. Escribano; A. Cabello. 2003. Negro de Los Pedroches, the molecular definition of a new variety of the Iberian pig breed. *Arch. Zootecnia* 52: 219 - 223.
- Martínez, A.; J. Vega – Plá; J. Delgado. 2004. Aplicación de marcadores genéticos moleculares al estudio de razas minoritarias: el cerdo Ibérico. *In: Delgado Bermejo, V.v. (Ed.) Biodiversidad Porcina Iberoamericana: Caracterización y Uso Sustentable. Universidad de Córdoba, Servicio de Publicaciones. Córdoba, España. pp 281 - 301.*
- Parejo, J.; M. Sansinforiano; A. Rabasco; M. Martínez – Trancón; J. Fernández - García; J. Padilla. 1998. Utilización de la técnica RAPD para estudios poblacionales en la raza bovina Blanca Cacereña. *Arch. Zootecnia* 47: 279 - 286.

- Pérez, E. 2005. Caracterización genética del cerdo criollo cubano utilizando marcadores moleculares. Memorias VII Congreso Centroamericano y del Caribe de Porcicultura. II Taller Internacional sobre el cerdo criollo de origen Ibérico. La Habana, Cuba. p. 569 - 575.
- Pérez, E.; A. Martínez; J. Delgado; F. Velásquez; D. Segura. 2004. Estudio preliminar de la diferenciación genética entre las dos variedades del cerdo criollo Cubano. Arch. Zootecnia 53: 359 – 362.
- Ramos, A.; R. Mestre; S. Gouveia; G. Evans; Y. Zhang; A. Cardoso; M. Rothschild; G. Plastow; T. Rangel – Figueiredo. 2003. Use of type I DNA markers for initial genetic characterization of two Portuguese swine breeds. Arch. Zootecnia 52: 255 - 264.
- Ren, J.; L. Huang; H. Ai; E. Gary; J. Gao; K. Chen; N. Ding; S. Deng. 2002. Studies of population genetic relationships among 24 Chinese and exotic pig breeds using AFLP analysis. Yi Chuan Xue Bao 29: 774-81.
- Serrano, G.; A. Egito; C. McManus; A. Mariante. 2005. Genetic population structure of Brazilian bovine breeds inferred by RAPD markers. Arch. Zootecnia 54: 409-414.
- Toro, M.; L. Silió; J. Rodríguez; C. Rodríguez. 1998. The use of molecular markers in conservation programs of live animals. Gen. Sel. Evol. 30: 585 – 600.
- Vega – Plá, J.; A. Martínez; A. Cabello; P. Rodríguez - Gallardo; J. Delgado. 2003. Preliminary study of individual assignment of Iberian pigs using DNA genetic markers. Arch. Zootecnia 52: 225 - 230.
- Vicente de, M.; C. López; T. Fulton. 2004. Análisis de la diversidad genética utilizando datos de marcadores moleculares: módulo de aprendizaje. Instituto Internacional de Recursos Filogenéticos (IPGRI). Roma, Italia. Formato Digital.
- Wu, F.; H. Wei; S. Gan; A. Wang. 2001. Analysis of genetic diversity of Bama miniature pigs and Guizhou miniature pigs by RAPD. Shi Yan Sheng Wu Xue Bao 34:115 - 119.
- Yang, H.; C. Zhao; P. Li; H. Ji; S. Li. 2004. Analysis on genetic relationship of Sanjiang White pig and 5 other pig breeds by RAPD. Yi Chuan 26:315 – 318.