

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LA CARNE Y CARACTERIZACIÓN DE
GENES ASOCIADOS A LA CALIDAD DE TRES RAZAS DE CERDOS CRIOLLOS
COLOMBIANOS

CAMILO ANDRES PARDO SARAY



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS
MEDELLÍN
2016

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LA CARNE Y CARACTERIZACIÓN DE
GENES ASOCIADOS A LA CALIDAD DE TRES RAZAS DE CERDOS CRIOLLOS
COLOMBIANOS

CAMILO ANDRES PARDO SARAY

Trabajo de grado para optar al título Magister en Ciencia y Tecnología de los
Alimentos

DIRECTOR:

Rodrigo Alfredo Martínez Sarmiento, Zootecnista, MSc, PhD.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS
MEDELLÍN
2016

Nota de aceptación:

Firma presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Medellín, Noviembre de 2016.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento especial al Doctor Rodrigo Martínez por permitir desarrollar mi tesis en su grupo de investigación y al equipo de trabajo del Laboratorio de Genética Molecular Animal que me apoyo durante el proceso: Diego Bejarano y Yolanda Gómez.

A los investigadores de CORPOICA responsables del Banco de Germoplasma Animal: Yesid Abuabara (C.I. Turipaná), Fernando Moreno (C.I. El Nus) y Henry Velázquez (C.I. La Libertad) y sus equipos de trabajo.

Al Doctor Rodrigo Vásquez director del Laboratorio de Calidad de Frutas y Carne del C.I. Tibaitatá y al personal del Laboratorio de Nutrición Animal del C.I. La Libertad, por permitirme realizar los análisis en sus instalaciones.

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE ANEXOS.....	11
GLOSARIO	12
RESUMEN	14
ABSTRACT.....	15
INTRODUCCIÓN	16
OBJETIVOS.....	20
CAPÍTULO 1.....	21
1.1 MARCO REFERENCIAL	22
1.1.1 EL CERDO.....	22
1.1.2 RAZAS PORCINAS	24
1.1.2.1 <i>Pietrain</i>	25
1.1.2.2 <i>Hampshire</i>	26
1.1.2.3 <i>Landrace</i>	27
1.1.2.4 <i>Duroc</i>	28
1.1.2.5 <i>Ibérico</i>	28
1.1.3 RAZAS CRIOLLAS COLOMBIANAS	29
1.1.3.1 <i>Casco de Mula</i>	31
1.1.3.2 <i>San Pedreño</i>	32
1.1.3.3 <i>Zungo</i>	32
1.1.3.4 <i>Congo Santanderano</i>	34
1.1.4 LA CARNE DE CERDO.....	34
1.1.5 CALIDAD DE LA CARNE	35
1.1.5.1 <i>Análisis de la Canal</i>	36
1.1.5.2 <i>Terneza</i>	38
1.1.5.3 <i>Capacidad de Retención de Agua (CRA)</i>	40
1.1.5.4 <i>Análisis Proximal</i>	41
1.2 MATERIALES Y MÉTODOS	44

1.2.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO	44
1.2.2 EVALUACIÓN DE LA CANAL	44
1.2.2.1 <i>Análisis de la Canal.....</i>	44
1.2.2.2 <i>Largo de la Canal (LC).....</i>	45
1.2.2.3 <i>El Espesor de Grasa Dorsal (EGD)</i>	45
1.2.2.4 <i>Perímetro de la Pierna (PP).....</i>	45
1.2.3 ANÁLISIS PROXIMAL	45
1.2.3.1 <i>Determinación de Humedad</i>	45
1.2.3.2 <i>Determinación de Proteína</i>	46
1.2.3.3 <i>Determinación de Extracto Etéreo</i>	46
1.2.3.4 <i>Determinación de Cenizas Totales</i>	46
1.2.4 TERNEZA	46
1.2.5 CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (CRA)	47
1.2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	48
1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
1.3.1 CALIDAD DE LA CARNE DE LAS RAZAS CRIOLLAS	49
1.3.1.1 <i>Análisis de la Canal.....</i>	49
1.3.1.2 <i>Largo de la Canal.....</i>	50
1.3.1.3 <i>Espesor de la Grasa Dorsal.....</i>	50
1.3.1.4 <i>Perímetro de Pierna.....</i>	51
1.3.1.5 <i>Terneza</i>	51
1.3.1.6 <i>Capacidad Retención de Agua</i>	52
1.3.1.7 <i>Análisis Proximal.....</i>	52
CAPÍTULO 2.....	54
2.1 MARCO REFERENCIAL.....	55
2.1.1 MARCADORES MOLECULARES BASADOS EN ADN	55
2.1.2 TIPOS DE MARCADORES MOLECULARES	56
2.1.2.1 <i>Polimorfismo de Longitud de Fragmento de Restricción (RFLP)</i>	56
2.1.2.2 <i>Secuencias cortas repetidas en Tandem (STR).....</i>	57
2.1.2.3 <i>Polimorfismos de Nucleótido Simple (SNP).....</i>	57
2.1.2.4 <i>Variación en el número de copias (CNV).....</i>	57
2.1.3 METODOLOGÍAS PARA MARCADORES MOLECULARES TIPO SNP	58
2.1.3.1 <i>Cortes con enzimas de Restricción (PCR-RFLP).....</i>	58
2.1.3.2 <i>Polimorfismo de Conformación de Cadena Individual de ADN (SSCP).....</i>	59

2.1.3.3	<i>Secuenciación Sanger</i>	59
2.1.3.4	<i>Pirosecuenciación</i>	59
2.1.3.5	<i>Detección Mediante Sondas de ADN</i>	60
2.1.3.6	<i>Minisequenciación (SNaPShot)</i>	60
2.1.3.7	<i>Microarreglos (Microarrays)</i>	61
2.1.4	MARCADORES MOLECULARES ASOCIADOS A CALIDAD DE CARNE EN CERDOS....	61
2.1.4.1	<i>Calpastatina (CAST)</i>	62
2.1.4.2	<i>Proteína Cardíaca de Unión a Ácidos Grasos (HFABP)</i>	64
2.1.4.3	<i>Receptor de Leptina (LEPR)</i>	65
2.1.4.4	<i>Receptor de Melanocortina 4 (MC4R)</i>	67
2.1.4.5	<i>Subunidad γ3 de la Proteína Quinasa Activada por AMP (PRKAG3)</i>	68
2.1.4.6	<i>Receptor de Rianodina 1 (RYR1)</i>	69
2.2	MATERIALES Y MÉTODOS	73
2.2.1	EXTRACCIÓN DE ADN	73
2.2.2	DISEÑO Y EVALUACIÓN DE PRIMERS	73
2.2.2.1	<i>Primers de Amplificación</i>	74
2.2.2.2	<i>Primers de Extensión</i>	75
2.2.3	REACCIÓN EN CADENA DE POLIMERASA (PCR)	76
2.2.4	MINISECUENCIACIÓN	77
2.2.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	79
2.2.5.1	<i>Frecuencia genotípica</i>	79
2.2.5.2	<i>Frecuencias alélicas</i>	79
2.3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	81
2.3.1	EXTRACCIÓN DE ADN Y PCR	81
2.3.1.1	<i>Extracción de ADN</i>	81
2.3.1.2	<i>Evaluación de los Primers de Amplificación</i>	81
2.3.1.3	<i>Determinación de las Condiciones Óptimas de las PCR</i>	81
2.3.2	ESTANDARIZACIÓN DE LA MINISECUENCIACIÓN	82
2.3.2.1	<i>Diseño de los Primers de Extensión</i>	82
2.3.2.2	<i>Determinación de las Condiciones Óptimas de la Minisequenciación.</i>	83
2.3.2.3	<i>Validación de Resultados</i>	84
2.3.3	GENOTIPADO POR MINISECUENCIACIÓN	84
2.3.3.1	<i>Frecuencias genotípicas y alélicas para el marcador CAST</i>	86
2.3.3.2	<i>Frecuencias genotípicas y alélicas para el marcador HFABP</i>	86

2.3.3.3 Frecuencias genotípicas y alélicas para el marcador LEPRH1	87
2.3.3.4 Frecuencias genotípicas y alélicas para los marcadores LEPRH2-H3	87
2.3.3.5 Frecuencias genotípicas y alélicas para el marcador MC4R.....	88
2.3.3.6 Frecuencias genotípicas y alélicas para el marcador PRKAG3	89
2.3.3.7 Frecuencias genotípicas y alélicas para el marcador RYR1	89
CONCLUSIONES	91
RECOMENDACIONES.....	93
ANEXOS	94
BIBLIOGRAFÍA	115
CIBERGRAFÍA	132

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de la composición de la canal en diferentes especies.....	37
Tabla 2. Escala de Terneza método Warner-Bratzler.....	40
Tabla 3. Composición de aminoácidos en tres diferentes especies.....	42
Tabla 4. Composición de los lípidos del lomo de cerdo magro y crudo.....	43
Tabla 5. Composición de minerales del lomo de cerdo magro y crudo.....	43
Tabla 6. Identificación de los cerdos.....	44
Tabla 7. Valores promedio para el análisis de la canal de las tres razas.....	49
Tabla 8. Valores promedio para los rendimientos de las tres razas.....	50
Tabla 9. Valores promedio para el largo de la canal (LC) en las tres razas.....	50
Tabla 10. Valores promedio de los espesores de grasa dorsal en las tres razas.....	51
Tabla 11. Valores promedio del perímetro de la pierna en las tres razas.....	51
Tabla 12. Valores promedio de la terneza para las tres razas.....	52
Tabla 13. Calidad bromatológica de la carne de tres razas criollas de cerdos (Casco de Mula, san Pedreño y zungo).....	53
Tabla 14. Genotipos para el gen RYR1.....	72
Tabla 15. Identificación del GenBank para los genes y los SNP analizados.....	74
Tabla 16. Primers de amplificación.....	75
Tabla 17. Primers de extensión.....	76
Tabla 18. Reactivos de la PCR.....	76
Tabla 19. Programa del termociclador para la PCR.....	77
Tabla 20. Reactivos de la minisequenciación.....	77
Tabla 21. Programa del termociclador para la minisequenciación.....	78
Tabla 22. Reactivos de la secuenciación.....	79
Tabla 23. Programa del termociclador para la secuenciación.....	79
Tabla 24. Evaluación de los primers de Amplificación.....	81
Tabla 25. Condiciones óptimas de amplificación.....	82
Tabla 26. Evaluación de los primers de Amplificación.....	83
Tabla 27. Volumen y concentración de la mix de primers de extensión.....	83
Tabla 28. Volúmenes para mix de PCR.....	84
Tabla 29. Genotipos y frecuencias alélicas en las razas criollas colombianas.....	85
Tabla 30. Genotipos deseados para cada marcador molecular tipo SNP.....	86
Tabla 31. Genotipos para la sustitución del dinucleótido LEPRH2 y LEPRH3.....	88
Tabla 32. Frecuencia alélica y genotípica del dinucleótido LEPRH2 y LEPRH3.....	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Árbol filogenético del orden Cetartiodactylia.	22
Figura 2. Cerdo de la raza Pietrain.	26
Figura 3. Cerdo de la raza Hampshire.	27
Figura 4. Cerdo de la raza Landrace.	27
Figura 5. Cerdo de la raza Duroc.	28
Figura 6. Cerdo Ibérico.	29
Figura 7. Árbol filogenético de la razas criollas con Neighbour Joining.	30
Figura 8. Cerdo de la raza Casco de Mula.	31
Figura 9. Cerdo de la raza San Pedreño.	32
Figura 10. Cerdo de la raza Zungo.	33
Figura 11. Cerdo de la raza Congo Santandereano.	34
Figura 12. Cortes de la canal de cerdo.	37
Figura 13. Lugares de Medición de Espesor de Grasa Dorsal.	38
Figura 14. Análisis de perfil de textura (A); Método de Warner-Bratzler (B).	39
Figura 15. Proceso de señalización del Receptor de Leptina.	66
Figura 16. Proceso de señalización del Receptor de Melanocortina 4.	68
Figura 17. Funcionamiento del Receptor de Rianodina 1.	71
Figura 18. Locus de los genes escogidos.	74

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Listado de identificación de los cerdos.	94
Anexo 2. ANOVA para el peso de Sacrificio en las tres razas.	95
Anexo 3. ANOVA para el peso y rendimiento de canal en las tres razas.....	96
Anexo 4. ANOVA para peso y rendimiento en carne en las tres razas.	98
Anexo 5. ANOVA para el largo de la canal en las tres razas.	100
Anexo 6. ANOVA para el espesor de grasa dorsal en las tres razas.	101
Anexo 7. ANOVA para el perímetro de pierna en las tres razas.	104
Anexo 8. ANOVA para la ternera por WB en las tres razas.....	105
Anexo 9. ANOVA para el análisis proximal en las tres razas.	106
Anexo 10. Concentraciones de ADN obtenidas.....	109
Anexo 11. Resultado amplificación con PCR.....	110
Anexo 12. Resultado de la estandarización de la minisequenciación.	111
Anexo 13. Genotipos para las tres razas porcinas criollas colombianas.....	112

GLOSARIO

A	adenina.
ADN	ácido desoxirribonucleico.
AGCL	ácidos grasos de cadena larga.
AGRP	proteína r-agouti.
AMP	adenosín monofosfato.
AMPK	proteína quinasa activada por AMP.
Arg	arginina.
ARN	ácido ribonucleico.
ARNm	ARN mensajero.
Asn	asparagina.
Asp	ácido aspártico.
ATP	adenosin trifosfato.
C	citosina.
C.I	centro de investigación.
Ca²⁺	ión de calcio.
CAST	gen de la calpastatina.
cm	centímetros.
CM	raza casco de mula.
CNV	variación en el número de copias.
CRA	capacidad de retención de agua.
Cys	cisteína.
EGD	espesor de la grasa dorsal.
FA	fragmento amplificado.
G	guanina.
g	gravedades.
Gly	glicina.
g	gramos.
HFABP	proteína cardíaca de unión a ácidos grasos.
IC₅₀	concentración inhibitoria del 50%.
Ile	isoleucina.
IMF	grasa intramuscular.
Indels	inserciones y deleciones.
Kb	kilobases.
KDa	kilodalton.
Kg	kilogramos.
Kgf	kilogramos fuerza.
LC	largo de la canal.
LEPR	gen del receptor de leptina.
MC4R	receptor de melanocortina 4.
mg	miligramos.
MgCl₂	cloruro de magnesio.
ml	mililitros.

mM	milimoles.
N	normalidad.
ng	nanógramos.
nm	nanómetros.
Pb	pares de bases.
PCR	reacción en cadena de polimerasa.
PP	perímetro de pierna.
PRKAG3	subunidad γ 3 de la proteína quinasa activada por AMP.
PSE	carne pálida, suave y exudativa.
QTL	loci de rasgo cuantitativo.
RFLP	polimorfismo de longitud de fragmento de restricción.
RS	el retículo sarcoplasmático.
RYR1	receptor de rianodina 1.
SAM	selección asistida por marcadores.
Sd	Desviación Estándar
SDS	dodecilsulfato sódico.
Ser	serina.
SNP	polimorfismo de nucleótido simple.
SP	raza san pedreño.
SSC	cromosoma de <i>Sus scrofa</i> .
STR	secuencias cortas repetidas en tandem.
T	timina.
Thr	treonina.
T_M	temperatura de fusión de los primers.
Val	valina.
WB	Warner-Bratzler.
Z	raza zungo.
%G/C	porcentaje de guanina-citosina en una cadena de ADN.
μl	microlitros.
μM	micromoles.

RESUMEN

La investigación se realizó en los centros de investigación “Turipaná”, “La Libertad” y “San José del Nus”, propiedad de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA, donde se localizan los bancos de germoplasma de las razas de cerdos criollos Zungo, Casco de Mula y San Pedreño respectivamente, se utilizaron en total 63 cerdos, 22 eran Zungo, 21 Casco de mula y 20 de la raza San Pedreño. Se evaluó la calidad de la carne teniendo en cuenta el rendimiento de carne y canal, peso al sacrificio, perímetro de pierna, largo de canal, espesor de la grasa dorsal, terneza, capacidad de retención de agua y composición bromatológica; además se evaluaron ocho marcadores moleculares tipo SNP utilizando la técnica de minisequenciación SNaPSHOT® (Applied Biosystems, USA). Todos los SNP empleados han sido asociados con la calidad de la carne y están presentes en seis genes CAST, HFABP, LEPR, MC4R, PRKAG3 y RYR1, se determinaron las frecuencias alélica y genotípicas, y finalmente para la búsqueda de asociaciones entre los genotipos y las variables de calidad se empleó el paquete SNPAssoc® del software estadístico R (R Foundation for Statistical Computing). Los cerdos Zungos lograron mayores pesos al sacrificio y largo de canal que las otras dos razas, adicionalmente, esta raza obtuvo una mayor terneza (3.7kgf), incluso superior a la presentada por razas comerciales. Se encontraron siete marcadores moleculares polimórficos y tan solo uno monomórfico (PRKAG3).

Palabras Claves: Marcadores moleculares, SNaPSHOT, CAST, HFABP, LEPR, MC4R, PRKAG3, RYR1.

ABSTRACT

The research was done in “Turipaná”, “La Libertad” and “San José del Nus” research centers, owned by Corporacion Colombiana de investigación Agropecuaria – CORPOICA where are located genebank of Colombian swine breeds: Zungo, Casco de Mula and San Pedreño respectively. A total of 63 pigs were used: 22 Zungos, 21 Casco de Mula and 20 San Pedreño. Meat Quality was evaluated taking into account meat and carcass yields, slaughter weights, leg perimeter, carcass length, backfat thickness, tenderness, water holding capacity and chemical composition. Furthermore, eight molecular markers SNP type were assessed with SNaPShot® minisequencing technique (Applied Biosystems, USA). All SNPs have been associated with meat quality in previous works and are present in six genes CAST, HFABP, LEPR, MC4R, PRKAG3 and RYR1. Allelic and genotypic frequencies were determined, and finally for association search between genotypes and meat quality variables was used SNPAssoc® package of R Statistical software (R Foundation for Statistical Computing). The Zungo breed achieved higher slaughter weights and carcass length than the other two breeds. Additionally, this breed had a higher tenderness (3.7 kgf), even higher than some commercial breeds. Seven molecular markers were found to be polymorphic and only one (PRKAG3) was monomorphic.

Keywords: Molecular markers, SNaPShot, CAST, HFABP, LEPR, MC4R, PRKAG3, RYR1.

INTRODUCCIÓN

Las especies animales de crecimiento rápido, con un alto índice de conversión de alimentos, como el cerdo, se constituye en una de las mejores alternativas para satisfacer el incremento de la demanda mundial de carne (FAO.org, 2015). Es así como la producción comercial de cerdos se ha intensificado de manera significativa en las últimas décadas, calculándose para el 2015 una producción mundial de su carne en 118.8 Millones de toneladas con aumento del 1.3% con respecto al año anterior, conservando el título de la carne de mayor producción a nivel mundial (FAO, 2015). Estos sistemas utilizan un número reducido de razas, con un alto nivel de uniformidad y alto rendimiento, colocando al cerdo como el mamífero domestico más difundido en el mundo y su carne la más consumida (FAO.org, 2015).

En Colombia de enero a noviembre de 2015 se sacrificaron 3'203.569 cabezas de ganado porcino, lo que corresponde a un aumento del 11.7% en comparación a lo contabilizado en el año 2014 (Asoporcinos, 2015).

En los países en desarrollo, existe una serie de sistemas tradicionales de producción de cerdos que se caracterizan por ser a pequeña escala, utilizan sub productos y residuos alimenticios de bajo valor comercial con lo que disminuyen los costos de producción (FAO.org, 2015). Estos sistemas de subsistencia están basados principalmente en cerdos criollos, manejados en forma extensiva, con dietas altas en fibra, deficientes en nutrientes, con bajos rendimientos productivos y altos contenidos de grasa corporal comparados con las razas comerciales, motivo por el cual no cumplen con las actuales exigencias del mercado, que requiere cerdos de alto rendimiento y carne con bajo contenido de grasa (Ortiz y Sánchez, 2001).

En Colombia se han descrito cerca de diez razas criollas, tres de estas son el Casco de Mula (CM), San Pedreño (SP) y Zungos (Z) distribuidas en tres zonas: Llanos

Orientales, Antioquia y la costa Atlántica, respectivamente (Barrera *et al.*, 2007). Estas razas llegaron hace 500 años al territorio colombiano y han logrado adaptarse a las condiciones climáticas tropicales y al manejo suministrado por los pequeños productores, la mayoría presentan comportamientos productivos bajos en parte debido a la inadecuada alimentación y por falta de prácticas de manejo genético, que permita seleccionar animales con características de importancia económica y de calidad de la carne (Cardozo y Rodríguez, 2010), Otra opción es la utilización de las razas comerciales de cerdo como Yorkshire, Hampshire, Duroc, Pietran y Landrace, entre otras, que fueron mejoradas genéticamente en los países industrializados para sus condiciones ambientales y tecnológicas, con el fin de obtener mejores rendimientos en sus sistemas de producción, sin embargo, estas razas no se ajustan adecuadamente a los sistemas tradicionales de producción en Colombia, por la falta de adaptación a los cambios de temperatura y humedad típicos del trópico (Linares *et al.*, 2011). La adaptación de los porcinos criollos a las condiciones del trópico a través de generaciones, evidencia un germoplasma valioso, que es necesario conservar y estudiar en la búsqueda de sistemas de producción sostenibles y competitivos (Lobo y Medina, 2009).

En Colombia, el mejoramiento de la producción de carne porcina durante muchos años estuvo ligada al cruzamiento entre razas comerciales por su alta productividad y las razas criollas por su adaptabilidad; a pesar de su utilidad, este modelo de mejoramiento presenta algunos problemas como, tiempos largos de detección de los fenotipos deseados y la aparición de descendencia sin las características deseadas (López *et al.*, 2007).

No obstante que entidades como CORPOICA se han interesado en la preservación de los recursos genéticos, la conservación de las razas de cerdos criollos colombianos ha sido compleja, debido a que su número se ha disminuido por los cruzamientos absorbentes con razas comerciales altamente seleccionadas (Barrera *et al.*, 2007). CORPOICA resalta la importancia del aprovechamiento de los recursos

genéticos de los cerdos criollos, por lo que adelanta trabajos de investigación para identificar y obtener individuos de estas razas, con características genéticas sobresalientes que se conviertan en una alternativa rentable por los bajos costos de manutención en comparación con las razas comerciales (Oslinger *et al.*, 2006).

Sin embargo, son pocos los trabajos realizados en la detección de marcadores moleculares en cerdos criollos, Carolino *et al.* (2007) trabajaron en la detección de la mutación del locus RYR1 asociado al síndrome de Stress porcino que afecta la calidad de la carne, en este estudio se incluyeron razas comerciales y tres razas criollas portuguesas; Gao *et al.* (2007) expresa la importancia del uso de tecnologías de genómica para el mejoramiento de la calidad de la carne en animales domésticos, tal como los avances en la identificación de genes o marcadores asociados a genes que afectan la calidad de la carne, y expresan que este tipo de ayudas son una herramienta importante para los programas de mejoramiento genético aplicados a los animales de las granjas a través de programas de selección asistida por marcadores.

En la especie porcina, son variados los estudios realizados a nivel mundial al respecto y se han reportado una gran variedad de genes con efecto mayor (Davoli y Braglia, 2007). El Laboratorio de Genética Molecular Animal de CORPOICA ha dado especial énfasis al estudio de marcadores de Polimorfismos de Nucleótido Simple (SNP por sus siglas en inglés) asociados a variaciones en la calidad de la carne, por lo que se convierten en una alternativa para la caracterización y la selección de los cerdos criollos colombianos (Padilla *et al.*, 2010). Entre las metodologías más usadas para determinar los marcadores moleculares tipo SNP se encuentra la minisequenciación que en comparación con otras metodologías existentes es altamente precisa y económica (Sobrino *et al.*, 2005).

Con este estudio se pretende identificar las características moleculares de nuestros recursos genéticos animales y específicamente en algunas de las razas de cerdos

criollos, que permita incrementar el acervo de conocimiento de genes que aporten significativamente a la variación de características de importancia económica, estas determinaciones son realizadas con la ayuda de la detección de marcadores moleculares de Polimorfismos de nucleótido simple (SNP).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la calidad de la canal y la carne de tres razas de cerdos criollos colombianos Zungo, Casco de Mula y San Pedroño, y variaciones a nivel de ADN en genes relacionados con estas características.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la calidad de la canal y la calidad fisicoquímica de la carne de tres razas cerdos criollos colombianos Zungo, Casco de Mula y San Pedroño.
- Identificar variantes tipo SNP (Polimorfismo de Nucleótido Simple) en genes asociados a la calidad de la canal y la carne en las razas de cerdos criollos colombianos Zungo, Casco de Mula y San Pedroño.

CAPÍTULO 1.

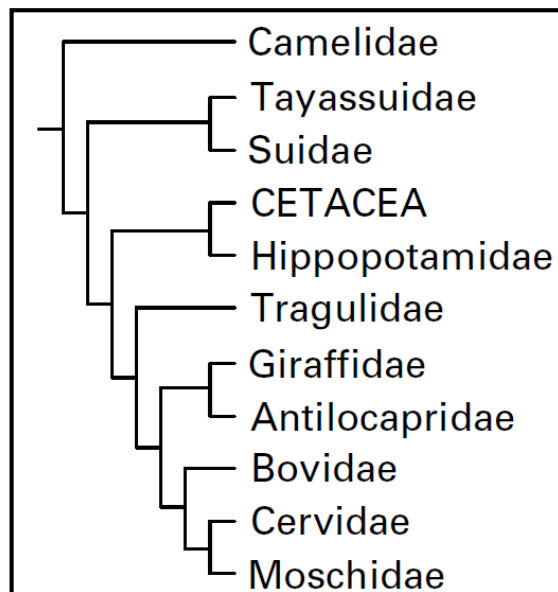
Evaluación de la calidad de la carne de razas porcinas criollas colombianas Zungo, San Pedreño y Casco de Mula.

1.1 MARCO REFERENCIAL

1.1.1 EL CERDO

El cerdo es una especie que pertenece al nuevo orden Cetartiodactyla, esta nueva clasificación taxonómica surge tras la unión de los antiguos ordenes Cetácea y Artiodactylia (O'Leary *et al.*, 2008). El orden Cetartiodactyla surgió hace aproximadamente 87.2 millones de años (Price *et al.*, 2005) y posee cuatro subórdenes: El suborden Tylopoda incluye los camellos, dromedarios y llamas; el suborden Ruminantia, contiene a las vacas, cabras, ovejas y ciervos; el suborden Cetancodonta, al que pertenecen los hipopótamos, delfines y ballenas; y el suborden Suina que corresponde a los cerdos y pecaríes. Utilizando técnicas bioinformáticas se realizó un árbol filogenético para el orden de los Cetartiodactyla (Figura 1).

Figura 1. Árbol filogenético del orden Cetartiodactylia.



Fuente: (Price *et al.*, 2005)

El suborden Suina fue el primero que se distanció de los otros subórdenes en el cretáceo tardío, está compuesta por dos familias la Tayassuidae y la Suidae (Hassanin *et al.*, 2012). La familia Tayassuidae está presente únicamente en el continente americano, posee tres géneros en la actualidad y tres únicas especies, son conocidos comúnmente como pecaríes (Góngora y Moran, 2005) y la familia Suidae está compuesta por cerca de dieciocho especies distribuidas en seis géneros, la mayoría están establecidas en el sureste de Asia y en Eurasia y unas pocas en el continente africano (Góngora *et al.*, 2011).

La familia Suidae aparece en el Eoceno tardío hace aproximadamente 35 millones de años en la península Tailandia, su diversificación aconteció a medida que se expandían por toda Asia hasta llegar a África y Europa (Orliac *et al.*, 2010). Algunos géneros *Babyrousa* y *Phacochoerus* evolucionaron en Asia y el género *Hylochoerus* apareció en el norte de África. El género *Sus* al que pertenece el cerdo doméstico, es uno de los más ampliamente extendidos, se encuentra desde las Filipinas hasta Europa (Góngora *et al.*, 2011).

El proceso evolutivo del género *Sus* ha sido descrito en estudios de tipo fenotípico y genotípico, pero aún no se ha podido determinar exactamente a causa de las inconsistencias de los resultados. No obstante, un estudio determinó el árbol filogenético de este género, utilizando como base variables genotípicas y fenotípicas, concluyendo que el género *Sus* ha divergido durante el Plioceno en tres grupos de especies: (i) *S. cebifrons*/*S. celebensis*, (ii) *S. barbatus* y (iii) *S. verrucosus*/*S. scrofa* (Mona *et al.*, 2007).

La especie *Sus scrofa* también denominado como jabalí, durante miles de años ha sido fuente de alimento para la especie humana, hace diez mil años aproximadamente se domesticó (Larson *et al.*, 2007), este proceso condujo al surgimiento de animales de carácter manso y dependientes del humano. En la actualidad la especie se encuentra en cuatro tipos de estado: silvestre (jabalí

europeo), semi-silvestre (cerdo ibérico), domestico (cerdo común) y salvaje (cerdos domésticos cimarrones) (Massei y Genov, 2004).

La domesticación del jabalí se llevó a cabo en diferentes lugares del mundo a partir de subespecies de *Sus scrofa*, se presentó deriva genética por un efecto fundador en cada región puesto que se obtuvieron poblaciones de cerdos a partir de unos pocos cerdos fundadores, lo que ocasionó la fijación de fenotipos y dio origen a las primeras razas de cerdos domésticos (Larson *et al.*, 2007). Desde el siglo XIX hasta la mitad del Siglo XX, se implementaron procesos de cruzamiento entre razas autóctonas con el fin de mejorar los rendimientos de carne y grasa, las razas Duroc, Pietrain y Hampshire entre otras aparecieron en esta época (McGlone y Pond, 2003).

Durante el siglo XX el enfoque de mejoramiento fue cambiando debido a la pérdida de interés comercial de la grasa del cerdo y el descubrimiento de su relación con problemas de salud en los humanos, por estas razones, la selección de los cerdos fue direccionada a aumentar el contenido de proteína y disminuir la grasa (Schmid, 2010). Con el desarrollo de la biología molecular a finales del siglo XX e inicios del siglo XXI, se están implementando procesos de mejoramiento asistido con marcadores moleculares, que disminuyen ostensiblemente los tiempos y son más eficientes para lograr nuevas razas de alta calidad (Davoli y Braglia, 2007).

1.1.2 RAZAS PORCINAS

Una raza es definida como un grupo de animales domésticos dentro de una misma especie, que poseen ciertas características externas, identificables y diferenciables visualmente de otros grupos; de igual manera puede ser definida como un grupo cuya separación de otros grupos es de carácter geográfico o cultural, sin importar la presencia de relación fenotípica. Se estima la existencia de más de 100 razas de cerdos en el mundo (Porter, 2002).

Las primeras razas de cerdos surgieron de manera natural, cuando poblaciones de cerdos quedaron aisladas geográficamente, lo que ocasionó la fijación de fenotipos dentro de las poblaciones por deriva genética. Sin embargo, la gran mayoría de las razas comerciales han sido diseñadas por cruzamiento selectivos entre las razas de origen natural con la finalidad de mejorar las características productivas (Buchanan *et al.*, 2011).

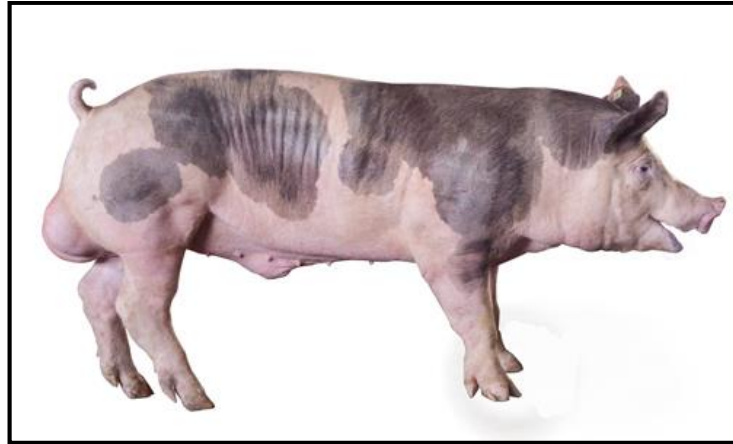
Las razas de cerdos son clasificadas en dos diferentes grupos o líneas: línea materna y línea paterna o terminal; La línea materna está compuesta por las razas Landrace Escandinavo y Yorkshire entre otras, estas poseen características de baja heredabilidad como: mayor número de lechones por camada, mayor número de lechones vivos por camada, alta capacidad reproductiva (Partos por hembra año), alta producción de leche, y habilidad materna (Mortalidad en lactancia o peso camada a 21 días) (Johnson *et al.*, 2011).

Las razas de línea paterna o terminal como Duroc, Pietrain y Hampshire se caracterizan por rápida y alta ganancia de peso, eficiencia de conversión de alimento, buena conformación muscular, mejor rendimiento de canal y de carne, la mayoría de estas variables son fáciles de medir y poseen entre moderada y alta heredabilidad; El bajo contenido de grasa y esteroides de estas razas genera grandes dificultades reproductivas dado que las hormonas involucradas son derivadas del colesterol (Ciobanu *et al.*, 2011).

1.1.2.1 Pietrain. Originaria de un poblado belga que lleva el mismo nombre, se dio a conocer en los años 50 luego de la crisis de la Segunda Guerra Mundial, su popularidad hizo que fuese exportado a muchos países en especial Alemania, su origen es desconocido.

Es una raza de tamaño medio, color blanco con pequeñas manchas oscuras y de orejas erguidas (Figura 2). Debido a su bajo contenido de grasa fue utilizada para realizar estudio del transcriptoma de las células musculares y mediante un ajuste de Bonferroni se relacionó la calidad de la carne con la expresión de 29 genes (Te Pas *et al.*, 2010).

Figura 2. Cerdo de la raza Pietrain.

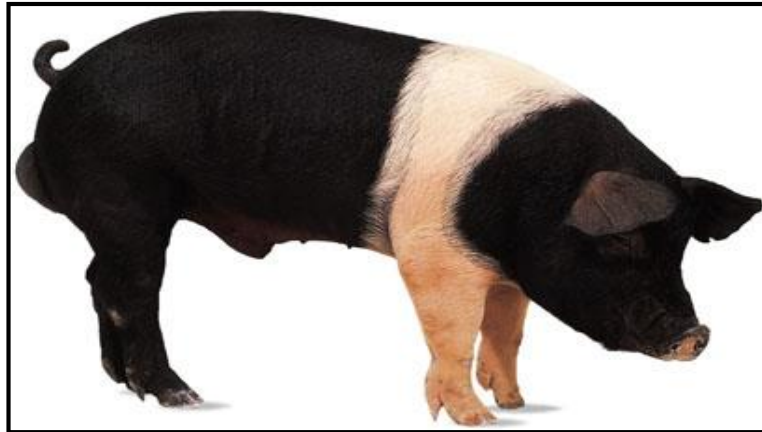


Fuente: (Semen Cardona S.L., 2014)

1.1.2.2 Hampshire. Es una de las razas más antiguas desarrolladas en América a partir de cerdos provenientes de la región de Hampshire en Inglaterra, son de color negro y poseen una franja de color claro sobre las patas delanteras (Figura 3), se ha extendido en todo el mundo gracias a su características como prolificidad, vigor, capacidad alimenticia y rendimientos altos de la canal.

Un cambio de la Citosina 1833 por una Timina en el gen receptor de Rianodina (RYR1) fue relacionado por secuenciación a un QTL en el cromosoma 6 de cerdos de la raza Hampshire, este QTL ha sido asociado con carne pálida, blanda y exudativa (Markljung *et al.*, 2008) (Fujii *et al.*, 1991).

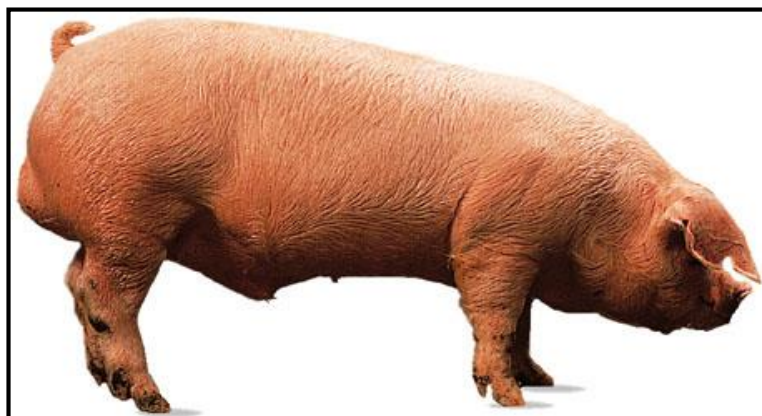
Figura 3. Cerdo de la raza Hampshire.



Fuente: (Lefever, 2013)

1.1.2.3 Landrace. Originaria de Dinamarca, data aproximadamente de finales del siglo XVII; durante años ha sido sometida a procesos de selección, que la han convertido en una de las razas comerciales más extendidas en el mundo. Se caracteriza por su color blanco, pelaje fino, hocico alargado y orejas caídas (Figura 4).

Figura 4. Cerdo de la raza Landrace.



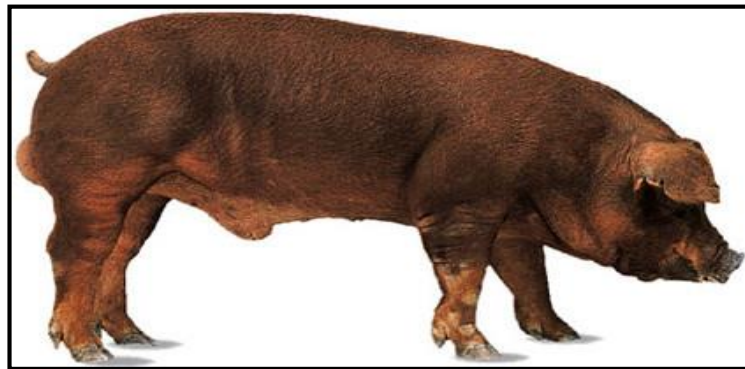
Fuente: (Lefever, 2013)

Es una de la razas que ha sido sometida a selección y en la actualidad se está implementando en Dinamarca mejoramiento asistido por marcadores, por ejemplo

de 1992 a 1997 se logró un aumento en 30% en el número de lechones por camada al año, llegando a lograr en promedio 15.3 lechones por camada (Bjerre *et al.*, 2010).

1.1.2.4 Duroc. La raza Duroc-Jersey fue diseñada en el este de los Estados Unidos a partir del cruce de la raza Red Jersey y Old Duroc, la primera se identificaba por su color de piel rojo y gran tamaño, sin embargo, la calidad y el rendimiento no era óptimo debido a su piel gruesa, sus huesos grandes y su alto contenido de grasa (Figura 5).

Figura 5. Cerdo de la raza Duroc.



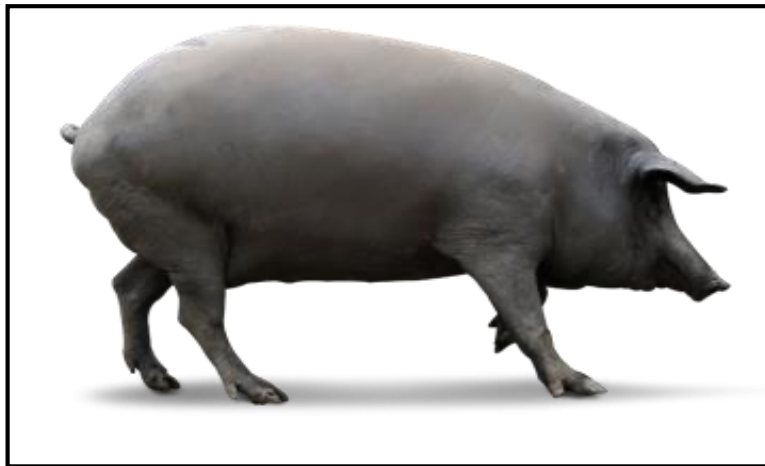
Fuente: (Grant Heilman Photography inc., 2013)

La raza Old Duroc provenía del estado de New York, tenía menor tamaño pero era compacto, adicionalmente poseía buenas características reproductivas. En la actualidad se caracteriza por tener color rojo, tamaño medio y orejas caídas. Se han encontrado cerca de 2 QTL en el cromosoma SSC14 fuertemente asociados con el contenido de grasa subcutánea en cerdos de la raza Duroc (Uemoto *et al.*, 2012).

1.1.2.5 Ibérico. Es un grupo de razas originarias del suroeste de la península ibérica, proviene principalmente de la subespecie *Sus scrofa mediterraneus*, se caracteriza por su tendencia por acumulación de grasa, pelo escaso, patas largas, hocico prolongado, tamaño medio y con color de piel el negro, sin embargo se encuentran cerdos ibéricos de color retinto (Figura 6) (Rodríguez *et al.*, 2012).

Se adaptaron al consumo de bellotas del bosque claro dehesa española, que está compuesto de alcornoques y encinas. La alimentación con bellotas y el estado semi-silvestre causado por sistema de producción extensivo, logran que la carne tenga características organolépticas muy valoradas por los consumidores (López *et al.*, 2000).

Figura 6. Cerdo Ibérico.



Fuente: (Cárnicas Maldonado S.L., 2016)

1.1.3 RAZAS CRIOLLAS COLOMBIANAS

Los cerdos llegaron a Latinoamérica en el siglo XV en el segundo viaje de Colón, pertenecían al grupo de razas denominadas Ibéricas, en Colombia llegaron 300 cerdos de la raza extremeña Lampiña en el año de 1505, transportadas por el conquistador Rodrigo de Bastidas (Del Rio, 1996). La presencia de fenotipos relacionado con otras razas ibéricas presumen la llegada de otras razas durante la conquista (Linares *et al.*, 2011).

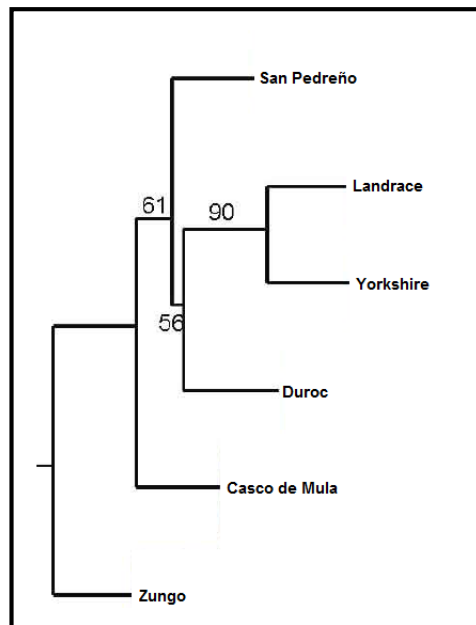
Muchos de los cerdos traídos de España se adaptaron muy bien a las características del trópico y escaparon de sus dueños, convirtiéndose en cerdos cimarrones, en la actualidad existen tres razas denominadas criollas en Colombia, la raza San

Pedreño que se ubicó en la región Antioqueña y el Viejo Caldas, la raza Casco de Mula en el Piedemonte Llanero y los Llanos Orientales, y la raza Zungo que está distribuida en las sabanas de Córdoba y Sucre (Oslinger *et al.*, 2006).

Las razas criollas durante muchos años fueron la base de la ganadería porcina en Colombia, pero en los últimos años con la llegada de razas mejoradas, estas nuevas razas fueron cruzadas con las criollas para aprovechar sus características de adaptabilidad al medio (Oslinger *et al.*, 2006).

La introgresión genética condujo a la casi extinción de la mismas, estudios de caracterización molecular evidenciaron la presencia de marcadores moleculares asociados a razas comerciales en razas Casco de Mula y San Pedroño, no obstante, la raza zungo presentó cierto grado de pureza y heterocigocidad. Se construyó un árbol filogenético utilizando distancias genéticas estándar de Nei (Figura 7) (Barrera *et al.*, 2007).

Figura 7. Árbol filogenético de la razas criollas con Neighbour Joining.



Fuente: (Barrera *et al.*, 2007)

El banco de germoplasma de CORPOICA tiene animales de las razas San Pedroño, Casco de Mula y Zungos, se realizan cruzamientos selectivos con el fin de mantener la diversidad genética, y adicionalmente se realizan estudios de introgresión genética para descartar individuos relacionados con las razas comerciales (Martínez *et al.*, 2005).

1.1.3.1 Casco de Mula. Su nombre deriva de su característico casco fundido (Sindactilia) similar al casco de mula, posiblemente este rasgo apareció en las pequeñas poblaciones de cerdos que emigraron hacia los llanos orientales y se fijó en la población por efecto fundador. Es un cerdo adaptado a la alta humedad y temperaturas elevadas del Oriente Colombiano, es muy prolífico y debido a su sindactilia es menos susceptible a enfermedades en las pezuñas (Poveda *et al.*, 1986).

Se considera un cerdo de tamaño medio, piel negra y lisa, pelaje de color negro y en ocasiones rojizo, el hocico es de tamaño mediano, orejas grandes y ligeramente caídas hacia adelante, rostro cóncavo, patas cortas y fuertes, anca caída y poca pierna (Figura 8) (Gutiérrez *et al.*, 2003).

Figura 8. Cerdo de la raza Casco de Mula.



Fuente: (Velásquez, 2012)

Esta raza está en peligro de extinción, aunque se tienen núcleos de conservación en el Banco de Germoplasma de CORPOICA en el C.I. La Libertad ubicado en Villavicencio (Meta).

1.1.3.2 San Pedroño. Cerdo de tamaño mediano, color negro de piel y de pelo, pelaje abundante, patas cortas y finas, orejas semicaídas, perfil semicóncavo y hocico corto (Figura 9) (Pérez, 1989). Estudios reportan que es un cerdo resistente a enfermedades y de crecimiento lento y alto contenido graso. Una gran cantidad de estos cerdos fue encontrada en San Pedro de los Milagros, Antioquia, de ahí su nombre (Villegas, 1961).

Figura 9. Cerdo de la raza San Pedroño.



Fuente: (Moreno, 2012)

Esta raza se conserva en el banco de germoplasma de CORPOICA en el C.I. El Nus ubicado en el municipio de San Roque, Antioquia.

1.1.3.3 Zungo. Esta raza se localiza en la Costa Atlántica Colombiana, principalmente en el valle del río Sinú y en el alto Sinú, es de color negro y escaso pelo, similar al cerdo lampiño ibérico, es de hocico mediano, orejas amplias y rectas,

con papada amplia, cuerpo cilíndrico, extremidades cortas y finas (Figura 10) (Sabogal y Owen, 1992).

Su adaptación a las altas temperatura y humedad ha favorecido la sobrevivencia y su reproducción en regiones tropicales a nivel del mar, adicionalmente la hembra tiene buenas características maternas. Se clasifican en tres tipos de acuerdo a su composición corporal: El Choncho de cuerpo redondeado, tamaño pequeño anca caída, patas pequeñas y gruesas, papada abundante, jamón pequeño y graso; el tipo mediano de tamaño medio, papada desarrollada, patas delgadas, falanges largas; el tipo Chuzo tamaño rectangular, longitud mediana, poca papada, patas largas y delgadas, jamón escaso y regularmente graso (Sabogal y Owen, 1992).

Figura 10. Cerdo de la raza Zungo.



Fuente: (Abuabara, 2012)

Utilizando marcadores moleculares tipo RFLP se determinó la ausencia total de la mutación en el gen RYR1 asociada con el síndrome de estrés porcino en 100 cerdos Zungos (Hernández *et al.*, 2008).

El Banco de Germoplasma para esta raza está ubicado en C.I. Turipaná de CORPOICA, localizado en Cereté, Córdoba.

1.1.3.4 Congo Santanderano. Como su nombre lo indica esta raza está ubicada en el departamento de Santander, su pelo es largo y grueso, el color generalmente es negro pero también se encuentran especímenes con color blanco, amarillo y rojo (Figura 11); la cabeza es poco voluminosa y con perfil ultra cóncavo; su cuerpo es pequeño pero con cavidad torácica amplia y con tendencia a desarrollar grasa; posee miembros cortos y fuertes (Albarracín, 2014).

Figura 11. Cerdo de la raza Congo Santanderano.



Fuente: (Contreras y Guaracao, 2010)

1.1.4 LA CARNE DE CERDO

La carne se define como el tejido muscular de los animales utilizados como alimento. Tiene una considerable variabilidad, la cual es reflejo de las diferencias sistemáticas en la composición y estado del tejido muscular (Mongue, 2005).

Aún después del sacrificio, el tejido muscular continúa con los procesos metabólicos, adicionalmente las membranas de las células permiten la entrada de iones activando el sistema proteico de actina-miosina, agotando todo ATP disponible y ocasionando el denominado *rigor mortis*. Luego de la muerte el oxígeno deja de llegar a las células musculares parando la respiración celular, lo que

conlleva a una síntesis de energía por metabolismo de tipo anaerobio que tiene como subproducto el ácido láctico (Restrepo *et al.*, 2001).

El músculo presenta un pH aproximadamente neutro, pero la aparición de ácido láctico ocasiona la caída de pH hasta aproximadamente 5.8, provocando la desnaturalización de las proteínas y la relajación del músculo. Este conjunto de procesos bioquímicos es denominado proceso de maduración, en donde se convierte el músculo en carne (Restrepo *et al.*, 2001).

La temperatura tiene un rol muy importante en este proceso, a altas temperaturas la maduración es más rápida pero el tiempo de vida útil de la carne es menor, por esta razón se considera que la temperatura debe ir descendiendo lentamente hasta llegar a una temperatura de 4°C. La carne de cerdo tiene un tiempo de maduración a temperatura de refrigeración de 3-6 días, a diferencia de las dos semanas que dura en bovinos (Restrepo *et al.*, 2001). El tiempo de vida útil de la carne de cerdo no empacada al vacío se estima entre 5 y 7 días desde el momento del sacrificio por consideraciones de calidad y seguridad. La carne de cerdo empacada al vacío y refrigerada se estima en una vida útil de 6 semanas. (Huerta, 2014).

1.1.5 CALIDAD DE LA CARNE

Un factor económico importante en la producción de carne de cerdo es la calidad, la cual se ve influenciada especialmente por dos variables: el ambiente y la genética.

El ambiente comprende una amplia variedad de factores como la alimentación, las condiciones de salubridad y sacrificio de los animales; de igual manera influye la cadena de distribución y almacenamiento de la carne. La variable genética ha sido empleada empíricamente desde la domesticación del cerdo hace más de 10 mil años, basándose en la selección de razas y en el cruce selectivo de los especímenes de mejores características (Gao *et al.*, 2007).

Los criterios de apreciación de la carne dependen fuertemente del mercado y del uso, y varían claramente entre las diferentes culturas en el mundo, por ejemplo, en Japón se aprecia más la carne oscura y con buen marmóreo, mientras en Europa se busca más carne de tipo magra y rosada (Coma y Piquer, 2000).

Se ha buscado gran variedad de parámetros para poder cuantificar la calidad, entre los más empleados se encuentra la composición bromatológica, la terneza y la capacidad de retención de agua (Garnier *et al.*, 2003).

1.1.5.1 Análisis de la Canal. La canal en porcinos está definida como el cuerpo sacrificado, exanguinado, depilado y eviscerado. Los rendimientos de canal en los cerdos son mucho mayores en comparación con los bovinos, puesto que la canal bovina no incluye la cabeza del animal (Restrepo *et al.*, 2001). Siendo así que el rendimiento en bovinos machos es de 52,6%, en bovinos hembra de 55,4% y en cerdos es 82,8%. Este rendimiento se determina dividiendo el peso de la canal entre peso vivo (pie) y se multiplica por 100. (Salazar, 2009).

Dado que la canal está compuesta principalmente por carne, grasa y huesos, la carne se convierte en la variable más importante, ya que es la de mayor valor económico. Kauffman (2001) compara los rendimientos de canal entre diferentes especies, encontrando que el cerdo posee el mayor porcentaje de grasa de los animales analizados con relación al peso vivo, sin embargo, el rendimiento de canal es superior al obtenido los bovinos (Tabla 1).

Para obtener los rendimientos de canal se deben pesar los animales antes del sacrificio, posterior al faenado las canales deben ser pesadas para determinar el rendimiento de canal caliente y para lograr el rendimiento de canal fría se debe tomar el peso de la canal 24 horas después de ser refrigerado (Leach *et al.*, 1996).

Tabla 1. Comparación de la composición de la canal en diferentes especies.

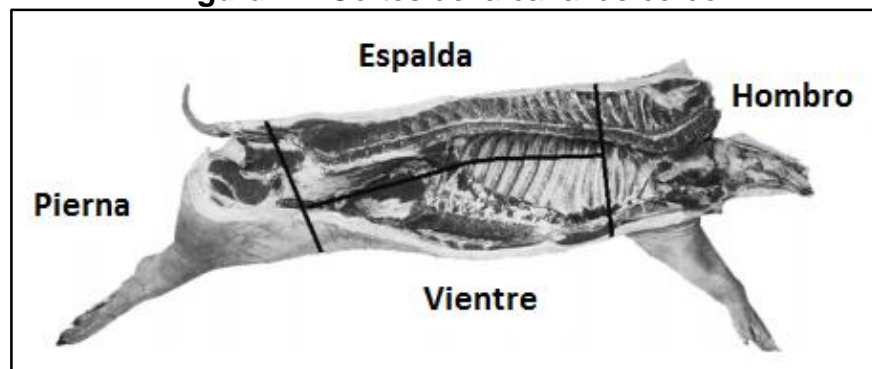
Variable	Bovino	Cerdo	Cordero	Pollo
Peso Vivo (kg)	550	110	50	2
No Canal (%)	38	27	48	23
Piel de la Canal (%)	0	5	0	9
Grasa de la Canal (%)	17	23	17	7
Hueso de la Canal (%)	10	9	10	22
Musculo de la Canal (%)	35	36	25	39
Rendimiento de canal (%)	62	73	52	77

Fuente: (Kauffman, 2001)

Para la determinación de la cantidad y rendimiento de carne se toma la canal de cerdo y se corta en 4 piezas (Pierna, hombro, espalda y vientre) (Figura 12); el hombro se separa a través de las vértebras torácicas 5-6; la espalda es separada del vientre con un corte paralelo a la columna vertebral, la pierna es separada de la espalda y el vientre con un corte vertical a finalizando la cadera (Fisher *et al.*, 2000).

Posterior al despiece, se procede a retirar la piel de la pierna y el hombro, se quita todo el contenido de grasa y se deshuesa cada una de las piezas, finalmente, se pesan la carne, la grasa y los huesos, y se calcula el rendimiento de carne como la relación entre la carne magra de la canal sobre el peso de la canal (Marcoux *et al.*, 2007).

Figura 12. Cortes de la canal de cerdo.



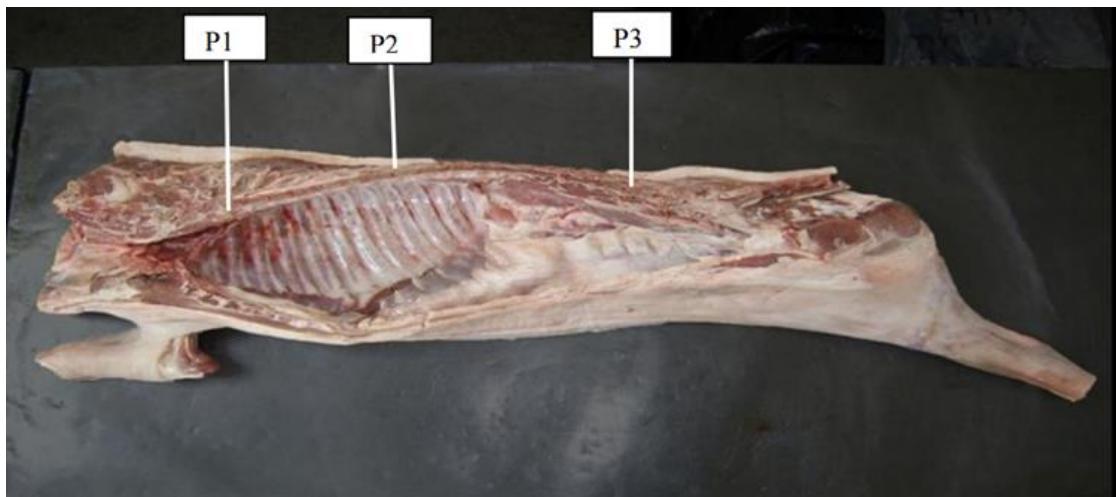
Fuente: (Marcoux *et al.*, 2007).

La determinación de la cantidad de carne es un proceso dispendioso, porque se debe separar toda la grasa de los músculos y por ende el animal debe ser sacrificado, es por esta razón que para agilizar la evaluación de la calidad se han diseñado una serie de ecuaciones para ciertas razas que relacionan el espesor de la grasa dorsal (EGD) y el contenido total de grasa, infortunadamente para razas criollas colombianas no se ha realizado este tipo de análisis. En la evaluación del rendimiento de grasa y carne también se incluyen otro tipo de variables como la longitud del animal, perímetro de la pierna y el brazuelo (Mejía *et al.*, 1999).

La medición del espesor de la grasa dorsal (EGD) puede ser realizado con el vivo mediante el uso de ultrasonido (Youssao *et al.*, 2002), Posterior al sacrificio medido en tres partes diferentes: P1 (Primera costilla); P2 (ultima costilla) y P3 (Ultima vértebra lumbar)

Figura 13(Figura 13) (Wang *et al.*, 1998).

Figura 13. Lugares de Medición de Espesor de Grasa Dorsal.



Fuente: (Santana, 2008)

1.1.5.2 Terneza. La terneza es una propiedad de la carne difícil de cuantificar puesto que depende mucho del consumidor final, está definida como la cualidad de la carne para dejarse cortar y masticar antes de la deglución (Tejerina *et al.*, 2012).

Se ha determinado que la ternera depende fuertemente del tiempo de maduración y la temperatura, por esto los cambios rápidos de temperatura pueden generar el endurecimiento de la carne. Adicionalmente, la distribución y la cantidad de tejido conectivo del músculo pueden influenciar la ternera; con la edad los animales aumentan la proporción de tejido conectivo causando mayor dureza en la carne; de igual forma el contenido de grasa intramuscular o marmóreo concede mayor suavidad a la carne (Purslow *et al.*, 2012).

Existen varios métodos instrumentales de medición, el método de Warner-Bratzler (WB) y el análisis de perfil de textura (TPA) (Figura 14), el primero se basa en el corte y el segundo en la compresión, aunque se utiliza el mismo instrumento llamado texturómetro; existen varias variables importantes a la hora de realizar estas mediciones como son el tamaño y geometría de la muestra y la orientación de las fibras (Tejerina *et al.*, 2012).

Figura 14. Análisis de perfil de textura (A); Método de Warner-Bratzler (B).



Fuente: (Hleap y Velasco, 2010)

La National Pork Producer Council's de Estados Unidos determina que la ternera óptima de la carne de cerdo utilizando el método de WB es 3.2Kgf, siete días

después del sacrificio; siendo esta la meta a la cual los mejoradores de carne deben llegar (National Pork Producers Council [NPPC], 1998). Se han establecido diferentes relaciones entre calificaciones sensoriales de la carne y los resultados de WB, generando la siguiente escala de terneza (Tabla 2) (Bickerstaffe *et al.*, 2001).

Tabla 2. Escala de Terneza método Warner-Bratzler.

Terneza	Resultado de WBS
Carne Muy Suave	< 5.0 kgf
Carne Suave	5 - 7.9 kgf
Carne Aceptable	8 - 10.9 kgf
Carne Dura	11 - 14.9 kgf
Carne Muy Dura	> 15 kgf

Fuente: (Bickerstaffe *et al.*, 2001)

1.1.5.3 Capacidad de Retención de Agua (CRA). La carne está compuesta en un 75 por ciento por agua, una parte de esta agua se pierde durante la cocción, refrigeración u otros procesos. Entre mayor sea la proporción de agua retenida, la carne tiende a ser más apreciada por el consumidor, pues se ha asociado con la característica de jugosidad. En la industria cárnica de embutidos, la carne de cerdo con mayores valores de CRA conducen a mejores rendimientos de producción (Petracci *et al.*, 2009).

Se considera que la mejor forma de estimarla es calculando la pérdida de agua de la carne cruda luego de ser sometida a centrifugación, presión, corte o gravedad (Honikel, 1998). Entre estas diferentes metodologías para determinar la CRA, se destaca el uso de presión constante para retirar el agua de la carne; la humedad de la muestra es atrapada en un papel filtro y luego con análisis de imágenes se calculan las áreas (Alonso *et al.*, 2010).

Nii *et al.* (2005) empleó dos metodologías de determinación de CRA: con presión y con centrifugación, en una población de cerdos Jabalí Japonés x Large White, los resultados de éste estudio no mostraron diferencias significativas entre las dos

técnicas, obteniendo valores entre 68 y 70 por ciento de capacidad de retención de agua.

1.1.5.4 Análisis Proximal. La carne tiene aproximadamente 28% de materia seca, la cual está conformada principalmente por proteína, grasa y minerales. En promedio tiene 1% de cenizas cuyos principales elementos son el potasio, fósforo, sodio, cloro, magnesio, calcio e hierro; posee 1% de carbohidratos principalmente glucógeno; 5% de lípidos y 21% de compuestos nitrogenados que en su mayoría corresponden a proteínas; y finalmente tiene un 72% de agua (Kauffman, 2001).

La proporción de estos macronutrientes difiere del tipo de músculo que se analice, en la mayoría de los estudios se tiene como referencia el músculo *Longissimus dorsi* también denominado comercialmente como lomo (Kim *et al.*, 2008).

La proteína de origen animal es muy valorada nutricionalmente, ya que posee la composición adecuada de aminoácidos esenciales requerido por los humanos, adicionalmente la digestibilidad de la proteína cárnica es mucho mayor en comparación a la de origen vegetal (Young y Pellett, 1994). Las proteínas aportan características funcionales para a la industria cárnica como la retención de agua, capacidad espumante, viscosidad y capacidad de formar geles (Restrepo *et al.*, 2001).

La proteína total o proteína cruda se determina a partir del contenido de nitrógeno de la muestra de carne y su posterior multiplicación con un factor de conversión (Para muestras cárnicas se multiplica por un factor de 6.25), la metodología de Kjeldahl es ampliamente empleada y consiste la digestión de la muestra en ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores como Sulfato de cobre (II), en esta reacción se convierte el nitrógeno orgánico en iones de amonio; finalmente se destila con el objetivo de atrapar el amoniaco en una solución de ácido bórico, se

continúa con una titulación con ácido clorhídrico para cuantificar el amoníaco producido y a partir de este determinar el contenido de nitrógeno (Leth, 2004).

La proporción de cada aminoácido presente en la carne no varía drásticamente con relación a la especie, no obstante, se ha logrado mediante cromatografía de alta eficacia relacionar pequeñas diferencias en el contenido de aminoácidos con el origen de un producto cárnico (Tabla 3); Jorfi *et al.* (2015) determinó que la concentración del aminoácido valina puede ser empleado como un marcador para diferenciar la carne de cerdo de otros tipos.

Tabla 3. Composición de aminoácidos en tres diferentes especies.

Aminoácido	Bovino	Pollo	Porcino
Valina	4.33	5.79	4.05
Leucina	7.08	6.94	7.26
Treonina	3.03	3.96	2.76
Lisina	8.05	7.83	8.23
Histidina	5.89	7.29	6.74
Fenilalanina	3.05	3.01	3.14
Isoleucina	3.47	3.45	3.35
Arginina	8.66	9.27	8.54
Metionina	2.03	1.97	2.29
Alanina	6.93	6.11	6.72
Prolina	8.17	7.43	8.15
Glicina	20.18	19.2	18.88
Serina	4.06	3.81	4.15
Cisteína	2.31	2.92	2.49
Tirosina	2.13	2.40	2.27
Ácido aspártico	2.82	2.86	2.70
Ácido glutámico	7.81	7.11	7.67

Fuente: (Jorfi *et al.* 2015)

La grasa presente dentro de la carne se denomina grasa intramuscular (IMF), está relacionada con mejores características sensoriales, no obstante, consumos elevados de grasa están asociadas en humanos con enfermedades como la hipertensión (Schmid, 2010).

La grasa intramuscular está compuesta principalmente por triglicéridos, no obstante,

otros compuestos no polares hacen parte del extracto etéreo de la carne, como son los fosfolípidos de la células musculares y en menor proporción compuestos como ácidos grasos libres, mono y diacilglicéridos, esteroides y vitaminas liposolubles (Tabla 4); La metodología más empleada es la extracción Soxhlet clásica, en donde la muestra es sometida a una evaporación constante de un solvente no polar como hexano o éter de petróleo, logrando extraer la mayor parte de los triglicéridos y el colesterol de la carne, y una pequeña fracción de los fosfolípidos y las lipoproteínas (Leth, 2004).

Tabla 4. Composición de los lípidos del lomo de cerdo magro y crudo.

Lípidos	Unidad	Valor por cada 100g de producto
Acido grasos saturados Totales	g	0.610
Ácidos grasos monoinsaturados Totales	g	0.620
Ácidos grasos Poliinsaturados Totales	g	0.399
Ácidos grasos Trans Totales	g	0.010
Colesterol	mg	56

Fuente: (Health Canada, 2012)

Los minerales presentes en la carne son en su mayoría: Fosforo, Calcio, Potasio, Sodio, Zinc, Magnesio y Hierro, adicionalmente hay presencia de otros minerales en muy pequeñas concentraciones (Tabla 5).

Tabla 5. Composición de minerales del lomo de cerdo magro y crudo.

Minerales	Unidad	Valor por cada 100g de producto
Calcio, Ca	mg	6
Hierro, Fe	mg	1.20
Magnesio, Mg	mg	27
Fósforo, P	mg	230
Potasio, K	mg	376
Sodio, Na	mg	54
Zinc, Zn	mg	2.10
Cobre, Cu	mg	0.130
Manganesio, Mn	mg	0.015
Selenio, Se	µg	30.8

Fuente: (Health Canada, 2012)

1.2 MATERIALES Y MÉTODOS

1.2.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se analizaron 63 porcinos de las razas criollas colombianas, provenientes de los centros de investigación de CORPOICA (Tabla 6. Identificación de los cerdos. Tabla 6). 20 Cerdos de la raza San Pedroño del C.I. El Nus (San Roque, Antioquia) localizado a 6° 29' latitud norte y 74° 24' de longitud oeste, y altura entre 800 a 1200msnm; 22 Cerdos de la raza Zungo del C.I. Turipaná (Cereté, Córdoba) localizado a 8° 51' 3.9'' latitud norte, 75° 48' 3.3'' longitud oeste, y a 14 msnm; y 21 cerdos de la raza Casco de Mula del C.I. La Libertad (Villavicencio, Meta) con localización 9° 6' latitud norte y 73° 34' longitud oeste a 330 msnm (Anexo 1).

Tabla 6. Identificación de los cerdos.

Raza	Animales	Machos	Hembras	Ubicación
Casco de Mula	21	21	0	C.I. La Libertad
San Pedroño	20	11	9	C.I. El Nus
Zungos	22	14	8	C.I. Turipaná

1.2.2 EVALUACIÓN DE LA CANAL

Los animales entraron en ayunó durante 24 horas previo al sacrificio y luego se procedió a tomar el peso de animal vivo ayunado. Luego del sacrificio, se pesaron las dos canales calientes, la cabeza y el espinazo; posteriormente se llevaron a refrigeración a 4°C por 24 horas. Cabe anotar que los cerdos fueron sacrificados a los 10 meses de edad.

1.2.2.1 Análisis de la Canal. Se realizó el corte en 4 partes: cabeza, pierna, brazuelo y el tiro o cuerpo. Se retiró la piel y los huesos de la carne, se pesó la carne magra y los diferentes tipos de tocinos. Para hacer los análisis estadísticos se tomó

el peso vivo ayunado (Peso de sacrificio), el peso y rendimientos de canal caliente, peso y rendimiento de carne magra.

1.2.2.2 Largo de la Canal (LC). La medida fue tomada con un flexómetro, desde el primera vertebra o Atlas hasta el borde anterior de la sínfisis pubiana (Latorre *et al.*, 2004).

1.2.2.3 El Espesor de Grasa Dorsal (EGD). Se toma con un calibrador de Vernier, se efectuaron tres mediciones a la altura de la primera costilla (P1), última costilla (P2) y la última vértebra lumbar (P3) (Wang *et al.*, 1998).

1.2.2.4 Perímetro de la Pierna (PP). Se tomó la medida 3 centímetros arriba de la rodilla de las patas traseras del cerdo, utilizando una cinta métrica (Medina *et al.*, 2002).

1.2.3 ANÁLISIS PROXIMAL

Se seleccionaron 1000g de carne del músculo *Longissimus dorsi* para hacer los análisis (Daszkiewicz *et al.*, 2005). Los análisis se llevaron a cabo en Laboratorio de Nutrición Animal del C.I. La Libertad. Los datos de proteína, grasa y minerales, se expresaron en relación a la materia seca de la carne y en relación con el total de la muestra.

1.2.3.1 Determinación de Humedad. Se realizó con el método gravimétrico de secado en un horno BINDER ED700. Se tomaron 5g de muestra de músculo y se colocaron a 125°C por 2 horas. El porcentaje de humedad y materia seca se estimó con la diferencia entre el peso al comienzo y al final del proceso de secado. (NTC 1663, 2009)

1.2.3.2 Determinación de Proteína. Se realizó el método de Kjeldahl en el equipo FOSS Kjelttec® 2100, se tomaron 200g de muestra de musculo para realizar la digestión con ácido sulfúrico por 2 horas, se destiló y se atrapó el amónico en una solución de ácido bórico, para finalmente realizar una titulación con ácido clorhídrico (NTC 1556, 2008).

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{0.014 * (N \text{ del HCl}) * (ml \text{ de HCl muestra} - ml \text{ de HCl Blanco})}{gr \text{ de la Muestra}}$$

Se utilizó la siguiente fórmula de conversión de nitrógeno a proteína, con un factor de conversión de 6.25, el blanco en promedio fue 0.1 ml y la normalidad del ácido clorhídrico fue 0.1N (Maclean *et al.*, 2003)

$$\text{Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} * \text{Factor de Conversión (6.25)}$$

1.2.3.3 Determinación de Extracto Etéreo. Se tomó 3 g de carne previamente secada, se dispuso en un dedal dentro del equipo de extracción FOSS Soxtec® 2050 como solvente se empleó éter de petróleo, el contenido de grasas se dedujo por gravimetría (NTC 1662, 2008).

1.2.3.4 Determinación de Cenizas Totales. Se realizó por incineración en mufla, se toma 2g musculo secado previamente, y se depositó en un crisol previamente pesado, se dispuso una temperatura de 550 °C por 6 horas hasta obtener una ceniza de color blanco, el porcentaje se calculó por gravimetría. (NTC 1678, 1999)

1.2.4 TERNEZA

Las muestras del músculo *Longissimus dorsi* se almacenaron en refrigeración por 7 días, se cortaron 4 ó 6 lonjas de 4 cm de ancho para cada animal y con un peso

promedio de 60-100 g. La cocción se efectuó en un asador eléctrico de marca Convection Oven®, modelo DHL-32. Las Lonjas son sometidas a 210°C hasta obtener una temperatura interna de 70°C, se dejaron enfriar para determinar la merma por cocción; luego, se extraen mínimo 3 cilindros con un sacabocados de 1,3 cm de diámetro, en paralelo a la dirección de las fibras musculares (Van Laack *et al.*, 2001)

El equipo utilizado para medir la fuerza al corte según el método de Warner Bratzler (WB) es un Shimadzu® - Modelo EZ Test, equipado con una sonda de corte en V tipo Warner-Bratzler con un ángulo de 60°. El equipo se configura con una velocidad de corte de 200 mm por minuto y la información se almacena con la ayuda del software Rheo-meter® (Crawford *et al.*, 2010). Esta medición se realizó en el Laboratorio de Calidad de carnes y frutas del C.I. Tibaitatá.

1.2.5 CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (CRA)

Se tomaron 100g de Longissimus dorsi y se trituraron en un molino con un disco de 4 mm de diámetro, se pesaron entre 200 y 500 mg de carne, se graficaron las coordenadas XY con divisiones de 1 cm en papeles filtros, se agregaron las muestras y se cubrieron con acetato en ambas caras del papel filtro, posteriormente en un texturometro marca Shimadzu®, modelo EZ Test se comprimieron las muestras por 5 minutos con 10 kgf. La determinación del área del agua y el área de la carne se efectuó con el programa (ImageJ 1.46r, National Institutes of Health, USA) y se calculó la capacidad con base en el peso y las áreas (Nii *et al.*, 2005). Este procedimiento también fue realizado en el Laboratorio de Calidad de carnes y frutas del C.I. Tibaitatá.

$$CRA = 1 - 9.47 * \frac{[\text{área del Líquido } cm^2 - \text{área de la Carne } cm^2]}{W \text{ de la Muestra en mg}}$$

1.2.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables dependientes rendimiento en canal, rendimiento de carne, largo de la canal, grasa a nivel de primera, segunda y tercera costilla, perímetro de la pierna, Terneza, CRA, humedad, porcentaje de grasa, porcentaje de ceniza y porcentaje de proteína se analizaron utilizando el procedimiento Proc UNIVARIATE, para determinar la distribución normal de las variables y se verificó que cumplieran los parámetros estadísticos de normalidad; como el modelo es desbalanceado por falta de algunas observaciones, se utilizó el Procedimiento GLM (General Lineal Model) del paquete estadístico SAS 9.2 (Statistical Analysis System Institute, SAS), manejando una o varias variables dependientes e independientes que pueden ser discretas o continuas, tales como raza y peso al momento de sacrificio. El modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \delta_j + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = es la j-ésima variable respuesta.

μ = es el valor medio global.

α_i = el efecto de la i-ésima raza.

δ_j = es el efecto del j-ésimo peso al sacrificio.

ε_{ij} = error aleatorio.

La variable peso al sacrificio se clasificó en tres niveles, el nivel 1, para aquellos cerdos que llegaron al sacrificio con un peso inferior a los 65 kilogramos, nivel 2 para aquellos cerdos que presentaron peso entre los 65 y 80 kilogramos, peso ideal de sacrificio, y los mayores de 80 kg se clasificaron como nivel 3.

Los promedios de las variables que presentaron significancia se compararon con la prueba de comparación de medias de rango estudentizado de Tukey (HSD).

1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.3.1 CALIDAD DE LA CARNE DE LAS RAZAS CRIOLLAS

1.3.1.1 Análisis de la Canal. Los cerdos de la raza Zungo presentaron peso promedio al sacrificio de 87.2Kg siendo significativamente mayor que las otras dos razas (Tabla 7), $P < 0.0001$ (Anexo 2). El peso de la canal caliente de los Zungos fue mayor al de las razas Casco de Mula y San Pedroño con promedios de 75.3Kg, 54Kg y 59.5Kg respectivamente, con un valor $P < 0.0001$ (Anexo 3).

Tabla 7. Valores promedio para el análisis de la canal de las tres razas

Raza	P. Sacrificio (Kg)	Sd	P. Canal (kg)	Sd	P. Carne (kg)	Sd
Casco de Mula	68.9 ^b	13.0	54.0 ^b	5.97	18.2 ^a	3.2
San Pedroño	69.5 ^b	9.2	59.5 ^b	6.65	21.4 ^b	3.1
Zungo	87.2 ^a	9.8	75.3 ^a	7.36	24.1 ^c	3.1

(^{a,b,c}) Prueba del rango estudentizado de **Tukey (HSD)**. Valores con letra diferente difieren estadísticamente.

El rendimiento en canal caliente fue similar en las tres razas y superiores a los obtenidos por Madeira *et al.* (2013) de 78.1% y 81.7% en cerdos de la raza Alentajano y en una raza comercial (Landrace x Large White) respectivamente, sacrificados con un peso promedio de 75 kg (Tabla 8) (Anexo 3). Kleeman *et al.* (1977) encontró valores más altos para peso de sacrificio (92.3kg) y pero similar rendimiento de canal (83.1%) en cerdos criollos de la raza Zungo.

Se encontraron diferencias significativas en peso de la carne en las tres razas analizadas, siendo el Zungo el de mayor peso de carne con 24.1kg y el menor Casco de Mula con 18.2kg con $P < 0.0001$; sin embargo, hubo diferencias en cuanto a rendimiento de carne magra entre la raza San Pedroño obtuvo 35.9% y Zungo 32.1% con un valor $P < 0.02$ (Tabla 8) Ninguna de la dos variables se ajusta al modelo planteado ya que obtuvieron resultado de R-cuadrado muy bajo (Anexo 4).

Tabla 8. Valores promedio para los rendimientos de las tres razas.

Raza	Rendimiento Canal Caliente (%)	Sd	Rendimiento Carne (%)	Sd
Casco de Mula	80.3 ^a	13.3	35.5 ^{ab}	6.6
San Pedroño	86.0 ^a	5.7	35.9 ^a	3.4
Zungo	86.4 ^a	4.1	32.2 ^b	3.9

(^{a,b,c}) Prueba del rango estudentizado de **Tukey (HSD)**. Valores con letra diferente difieren estadísticamente.

1.3.1.2 Largo de la Canal. Se encontraron diferencias significativas para las tres razas de cerdos con valor $P < 0.0001$ y R-cuadrado de 0.73514 (Anexo 5), la raza Zungo obtuvo el promedio de largo de canal más grande con 96.5cm, seguido de San Pedroño con 87.4cm y Casco de Mula con 70.4cm (Tabla 9). Los valores para la raza San Pedroño y Zungo son cercanos a los obtenidos en cerdos de la raza pampas (93.4cm) (Barlocco *et al.*, 2000), no obstante, estos animales fueron sacrificados a 8 meses.

Tabla 9. Valores promedio para el largo de la canal (LC) en las tres razas.

Raza	LC (cm)	Sd
Casco de Mula	70.4 ^c	6.0
San Pedroño	87.4 ^b	6.7
Zungo	96.5 ^a	7.4

(^{a,b,c}) Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD). Valores con letra diferente difieren estadísticamente.

1.3.1.3 Espesor de la Grasa Dorsal. Se encontró diferencias significativas para la raza con respecto a las variables EGD1, EGD2 y EGD3 logrando valores $P < 0.0001$ (Anexo 6). Para EGD1 las razas Zungo y San Pedroño son similares con 4.8cm y 4.5cm en comparación con Casco de Mula que tan solo tiene 1.9cm.

Para EGD2 se encuentran diferencias entre las tres razas siendo Casco de Mula la menor con 0.4cm seguida de San Pedroño con 3.9cm y Zungo con 4.4cm; y finalmente para EGD3 se sigue el mismo orden, Zungo con 4.8cm, San Pedroño con 3.6cm y Casco de Mula con 0.2cm (Tabla 10).

Tabla 10. Valores promedio de los espesores de grasa dorsal en las tres razas.

Raza	EGD1 (cm)	Sd	EGD2 (cm)	Sd	EGD3 (cm)	Sd
Casco de Mula	1.9 ^b	0.7	0.4 ^b	0.2	0.2 ^c	0.1
San Pedroño	4.5 ^a	0.8	3.9 ^a	0.8	3.6 ^b	0.6
Zungo	4.8 ^a	1.5	4.4 ^a	1.1	4.8 ^a	1.1

(^{a,b,c}) Rango estudentizado de Tukey (HSD). Valores con letra diferente difieren estadísticamente.

Los datos de EGD1 y EGD2 de las razas San Pedroño y Zungo son similares a los obtenidos en cerdos Chato Murciano de 5.5cm y 3.1cm para EGD1 y EGD2 respectivamente, sin embargo, los pesos de sacrificio se encontraban en 110kg (Galián, 2008).

1.3.1.4 Perímetro de Pierna. Se obtuvo diferencias significativas para la raza con un valor $P < 0.0001$ (Anexo 7), la raza Zungo obtuvo mayor perímetro promedio con 60.3cm, seguido de la raza San Pedroño con 45.9cm y por último la raza Casco de Mula con 41.9cm (Tabla 11). Los datos obtenidos fueron inferiores a los recopilados por Tusa (2012) para la raza chato murciano, los cuales alcanzaron en promedio 75cm de perímetro de jamón a los 8 meses.

Tabla 11. Valores promedio del perímetro de la pierna en las tres razas.

Raza	Perímetro Pierna (cm)	Sd
Casco de Mula	41.9 ^b	4.2
San Pedroño	45.9 ^b	8.7
Zungo	60.3 ^a	4.5

(^{a,b,c}) Rango estudentizado de Tukey (HSD). Valores con letra diferente difieren estadísticamente.

1.3.1.5 Terneza. Se obtuvo una diferencia significativa con relación a la terneza medida por el método de Warner-Bratzler con un valor P de 0.0003 (Anexo 8); La carne de cerdo Zungo se cataloga de tipo muy suave con un promedio de 3.7Kgf en comparación a la raza Casco de Mula con 4.5Kgf y San Pedroño con 5.7Kgf, las dos primeras catalogadas como tipo de carne muy suave (Bickerstaffe *et al.*, 2001) (Tabla 12).

Tabla 12. Valores promedio de la terneza para las tres razas.

Raza	Terneza WB (Kgf)	Sd
Casco de Mula	4.5 ^b	1.51
San Pedroño	5.7 ^a	1.21
Zungo	3.7 ^b	1.64

(^{a,b,c}) Rango estudentizado de Tukey (HSD). Valores con letra diferente difieren estadísticamente.

Los resultados muestran que solo la raza Zungo presentó mayor terneza que las carnes comerciales de referencia, como Berkshire, Hampshire y Duroc que presentaron un esfuerzo de corte de 4.28Kgf, 4.19Kgf y 4.01Kgf respectivamente siete días después del sacrificio (Van Laack *et al.*, 2001).

1.3.1.6 Capacidad Retención de Agua. La capacidad de retención de agua en las diferentes razas fue similar, para Zungo se alcanzaron valores promedios de 74.1%, para Casco de Mula y San Pedroño se obtuvieron valores de 72.3% y 72.1% respectivamente, no se encontraron diferencias significativas entre ninguna de las razas. La información es similar a la obtenida en cruces entre cerdo silvestre japoneses y Large White de 74% (Nii *et al.*, 2005).

1.3.1.7 Análisis Proximal. Los cerdos de la raza Zungo obtuvieron menor porcentaje promedio de humedad en la carne con 62.1% contra 68% y 66.1% de San Pedroño y Casco de Mula respectivamente, esta diferencia fue significativa con un valor P de <0.0001. Sin embargo, el R-cuadrado fue bajo, lo que indica que posiblemente existen otras fuentes de variación no previstas en el modelo, en general los valores son más bajos que los reportado por Solís *et al.* (2001) para la carne magra de cerdo Ibéricos (70.7%).

Las variables grasa, cenizas y proteína no presentaron diferencias significativas (P>0.05), para las diferentes razas evaluadas, el promedio general fue 3.5% para

Cenizas, 20.5% para Grasa y 70.1% para Proteína, y son similares a los reportados por Carvajal (2001) (Tabla 13).

Tabla 13. Calidad bromatológica de la carne de tres razas criollas de cerdos (Casco de Mula, san Pedreño y zungo).

Raza	Grasa	Sd	Cenizas	Sd	Proteína	Sd
Casco de Mula	21.1	6.3	3.5	0.5	69.7	6.6
San Pedreño	19.8	5.0	3.3	0.8	70.6	3.9
Zungo	20.6	4.7	3.7	1.2	70.2	3.7
Carvajal (2001)	33.8	10.1	3.1	0.5	61.2	9.9

Los datos de proteína total base seca de las razas criollas son inferiores a los obtenidos en cerdo de la raza Landrace Polaco y Large White Polaco de 80.6%, esto se debe a que los animales analizados tenían un contenido de grasa base seca menor de 12.7% (Daszkiewicz *et al.*, 2005).

CAPÍTULO 2.

Identificación de variaciones en el ADN de tipo SNP en genes asociados con la calidad de canal y carne en razas porcinas criollas colombianas Zungo, San Pedreño y Casco de Mula.

2.1 MARCO REFERENCIAL

2.1.1 MARCADORES MOLECULARES BASADOS EN ADN

A través de la historia, el hombre ha realizado mejoramiento genético de especies animales, vegetales, hongos y microorganismos, con base en metodologías empíricas de selección y reproducción de los especímenes con las mejores características fenotípicas; estos procesos de mejoramiento en animales generalmente son poco eficientes, puesto que los tiempos necesarios para visualizar los fenotipos deseados son en algunos casos muy largos, además las características no son siempre transmitidas a su descendencia y algunas son difíciles de cuantificar o poseen baja heredabilidad (Andersson, 2001). Sin embargo estas técnicas fueron usadas satisfactoriamente para la creación de las razas de alta productividad actuales.

Un ejemplo conocido de mejoramiento genético en ganado porcino se desarrolló en el Reino Unido entre los años 1962 a 1992, para el año 1962 un cerdo promedio necesitaba alrededor de 450 Kg de alimento para estar en un peso de sacrificio ideal de 100 Kg y componiéndose tan sólo por 33.75 Kg de carne magra; además las cerdas producían en promedio 14 lechones al año. Para el año 1992 los cerdos del Reino Unido producían cerca de 21 lechones al año y necesitaban 270 Kg de alimento para alcanzar el mismo peso de sacrificio, de los cuales aproximadamente 45 Kg correspondían a carne magra (Montes de Oca *et al.*, 2006).

Los marcadores moleculares son secuencias de ADN de fácil identificación y cuya herencia puede ser controlada, estas secuencias pueden hacer parte de genes o de regiones repetitivas; su principal finalidad es evidenciar polimorfismos presentes en el ADN. En algunos casos pueden ser utilizados para diferenciar los alelos de un gen o en pruebas de filiación entre individuos.

La presencia de algunos marcadores moleculares se han asociado a características fenotípicas cuantitativas, intuyéndose que el polimorfismo detectado sea el responsable de la característica, o que está tan cerca a la variación responsable que por desequilibrio de cruzamiento, la posibilidad de que hereden independientemente es muy pequeña. Estas regiones se denominan como “Loci de Rasgo cuantitativo” (*Quantitative Trait Loci*, QTL) (Montaldo *et al.*, 1998).

La Selección Asistida por Marcadores (*Marker Assisted Selection*, MAS), se fundamenta en detectar los QTL y fijarlos en las poblaciones, esto permite disminuir el tiempo necesario para la selección de los individuos de mayor productividad, dado que este proceso se puede llevar a cabo en etapas tempranas del crecimiento del animal, antes de ser evidente el fenotipo del individuo. Sin embargo, la MAS no substituye completamente las técnicas tradicionales, pero acoplado con otras técnicas incrementan notoriamente la eficiencia (López *et al.*, 2007).

2.1.2 TIPOS DE MARCADORES MOLECULARES

Hay una gran variedad de técnicas moleculares diseñadas para identificar los QTL, sus discrepancias se asientan en el tipo de variación o polimorfismo que detectan y su escogencia depende de la aplicación que se pretenda realizar, las más utilizadas son RAPD, AFLP, RFLP y todas las metodologías enfocadas en detectar los polimorfismos como VNTR, STR, CNV y SNP (López *et al.*, 2007).

2.1.2.1 Polimorfismo de Longitud de Fragmento de Restricción (RFLP). Esta metodología surgió gracias a dos importantes aplicaciones concebidas en los años 70, el descubrimiento de las aplicaciones de las enzimas de restricción en 1973 y el desarrollo de técnicas de Hibridación del ADN en 1975. Las enzimas de restricción tienen la cualidad cortar en sitios específicos del ADN, sin embargo, un pequeño cambio en la secuencia causado por inserciones, deleciones o sustituciones

naturales o artificiales, puede causar que un sitio de reconocimiento de una enzima restricción aparezca, cambie o se pierda (Lander y Botstein, 1989).

2.1.2.2 Secuencias cortas repetidas en Tandem (STR). En los años 80 se descubrieron en el ADN una serie de secuencias cortas repetidas también denominados microsatélites, están conformadas por 1 o hasta 6 pares de bases, se encuentran repetidas dentro de todo el genoma de los eucariotas haciendo parte de las secuencias no codificantes, aunque la tasa de mutación es alta en comparación a las regiones codificantes, el número de repeticiones de cada secuencia simple es constante, por esta razón es ampliamente utilizado para análisis de pedigrí y paternidad (Pava, 2009).

Un estudio realizado mediante el seguimiento de secuencias STR de fósiles de cerdos, determinó que la domesticación del cerdo ocurrió en diferentes partes del mundo aproximadamente hace unos 11000 años (Larson *et al.*, 2007).

2.1.2.3 Polimorfismos de Nucleótido Simple (SNP). Los polimorfismos de este tipo dan origen a los denominados alelos y son originados por un cambio de solo un nucleótido, es decir, una mutación puntual de la secuencia del ADN, fue descubierta en los años 70 durante los primeros procesos de secuenciación, pero hasta los años 90 se desarrollaron técnicas para la detección de este tipo de mutaciones (Aitken *et al.*, 2004).

En la actualidad son considerados los marcadores moleculares con mayor futuro, gracias a las ventajas de ser el polimorfismo más abundante en los organismos y adicionalmente los procesos de detección son automatizables (Vignal *et al.*, 2002).

2.1.2.4 Variación en el número de copias (CNV). En la última década se encontró que algunos distintos segmentos en el ADN estaban repetidos, estos fragmentos podían incluir genes completos y su tamaño es variable, lo que implicaría que la

expresión de algunos genes aumente o disminuya en relación al número de copias presentes en el individuo y esto se ha asociado con algunas enfermedades como la esquizofrenia en humanos (Stone, *et al.*, 2008).

En 474 cerdos de razas (Yorkshire, Landrace y cruces de Duroc), se utilizó el microarreglo de SNP60 para porcinos de la marca Illumina, y se hallaron 382 regiones CNV, que correspondían al 4.23 % del genoma autosómico e incluían 1468 genes con una gran diversidad de funciones y siendo una alternativa de estudio para los mejoradores genéticos (Wang *et al.*, 2012).

2.1.3 METODOLOGÍAS PARA MARCADORES MOLECULARES TIPO SNP

En teoría un locus para un SNP puede generar hasta cuatro diferentes alelos, pero en la realidad, los SNP se restringen a un par de alelos a causa de la poca probabilidad de que exista una mutación puntual sobre el mismo nucleótido. (Vignal *et al.*, 2002)

2.1.3.1 Cortes con enzimas de Restricción (PCR-RFLP). Se emplea la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para amplificar en primer lugar la región que rodea el sitio de restricción, posteriormente se adiciona la enzima y mediante una electroforesis se determina si hubo corte con la aparición de 2 o más bandas, o la ausencia de un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción utilizada cuando aparece una única banda (Liu y Cordes, 2004).

Una de la aplicación en cerdos es la detección del gen RYR1 asociado al síndrome de estrés porcino, la mutación recesiva que genera la enfermedad corresponde a un cambio de una timina en el nucleótido 1863 por una citosina, ocasionando la pérdida de un sitio de restricción para la enzima Alw21I (Otsu *et al.*, 1992).

2.1.3.2 Polimorfismo de Conformación de Cadena Individual de ADN (SSCP).

El principio de esta metodología es que el plegamiento de una cadena simple de ADN en condiciones no desnaturizantes depende de la secuencia de nucleótidos que posee y tan solo un cambio en un nucleótido puede generar un cambio en el plegamiento, que puede ser visualizado por una variación en la velocidad de migración de la secuencia en una electroforesis en gel de poliacrilamida (Hayashi, 1991). El proceso consiste en la amplificación de la secuencia que rodea el SNP, luego se realiza una electroforesis con gradiente de desnaturización para determinar los diferentes alelos presentes por diferencias en la distancia de migración (Sasaki *et al.*, 2001).

Con esta técnica se ha logrado identificar correctamente el polimorfismo en el gen RYR1 causante del síndrome de estrés porcino (Castro *et al.*, 2011).

2.1.3.3 Secuenciación Sanger. Fue la primera técnica de secuenciación automatizada, elaborada por Frederick Sanger en 1977, con esta herramienta se realizó el proyecto del genoma humano, la base de la técnica es la amplificación de una región del ADN con un primer específico, adicionalmente se utilizan nucleótidos normales y una pequeña cantidad de nucleótidos marcados diferencialmente con fluorescencia y sin el grupo Hidroxi en el carbono tres del azúcar, la adición de estos últimos impide que la polimerasa en el proceso de amplificación continúe agregando nucleótidos y se generan por consiguiente fragmentos de diferentes tamaños que pueden ser determinados mediante electroforesis capilar (Harrington *et al.*, 2013).

2.1.3.4 Pirosecuenciación. Es una metodología de secuenciación de ADN a gran escala, en ella los primers se acoplan a la cadena sencilla de ADN y se van adicionando uno a uno los nucleótidos, la polimerasa va uniendo el nucleótido específico y liberando su pirofosfato, que puede ser detectado con la enzima Luciferasa cuantificando la emisión de luz generada. Permite la detección de los

SNP y la regiones cercanas, el uso de esta metodología es limitado para regiones con alta repetición de un solo nucleótido y por el costo elevado del equipo (Ronaghi, 2001).

2.1.3.5 Detección Mediante Sondas de ADN. Este grupo de metodología se cimienta en la elaboración de oligonucleótidos específicos con una determinada marcación que puede ser medida mediante fluorescencia, estas son nombradas como sondas.

Hay una amplia diversidad de sondas, las más empleadas son las sondas TaqMan® emiten fluorescencia cuando la secuencia esta acoplada a la región del ADN que contiene el SNP, de igual manera las moléculas Beacon son sondas que pierden su conformación inicial en forma de horquilla al acoplarse a la secuencia, emitiendo fluorescencia (Sobrino *et al.*, 2005).

2.1.3.6 Minisequenciación (SNaPShot). Esta metodología es una de las más utilizadas para la detección de SNP, consiste en una amplificación inicial de la secuencia que rodea el SNP, consecutivamente, se agrega un solo primer denominado primerShot que se une hasta el nucleótido anterior al SNP, luego se adiciona una polimerasa y nucleótidos marcados fluorescentemente, dependiendo del nucleótido que se une el color va a ser diferente y puede ser calculado mediante una electroforesis capilar acoplada a un detector de fluorescencia.

La ventaja más importantes de esta metodología es la posibilidad de realizar estimaciones de 10 SNP diferentes con la utilización de primers de tipo Shot de diferentes longitudes, el tamaño de los primers es ajustado con la adición en el extremo 5' de una cola de polyA, polyT o repeticiones de CAGT, además se encuentra automatizada y es económica en comparación a otras metodologías (Hurst *et al.*, 2009) (Sylvänen, 1999).

En cerdos de las razas Duroc, Landrace y Large White se han evaluado SNP presentes en los genes RYR1, IGF2, FUT1, MUC13, y KPL2 con buenos resultados de genotipificación (Ruan *et al.*, 2013). En porcinos ibéricos, jabalíes y Duroc, se evaluaron siete SNP en los genes HFABP, MC4R y LEPR, que habían sido asociados a calidad de carne en diversas investigaciones (Padilla *et al.*, 2010).

2.1.3.7 Microarreglos (Microarrays). Las técnicas convencionales son capaces de detectar hasta 20 SNP, sin embargo, con los procesos de secuenciación del genoma se ha encontrado que el número de SNP existente es muy grande. Esta técnica permite determinar hasta un número de 62,163 SNP del cerdo al mismo tiempo, por consiguiente, la cantidad de información generada es altísima y permite visualizar los QTL más significativos del genoma. Las limitaciones principales son los elevados costos de equipos e insumos (Ramayo *et al.*, 2010).

La técnica radica en la fijación de pequeños oligonucleótidos específicos para cada SNP en una matriz llamada microarreglo, posteriormente el ADN del individuo es cortado y adicionado, la presencia de un SNP es cuantificada con la emisión de fluorescencia que se presenta al unirse el fragmento de ADN del individuo con el oligonucleótido específico del microarreglo (Seidel y Niessner, 2014).

2.1.4 MARCADORES MOLECULARES ASOCIADOS A CALIDAD DE CARNE EN CERDOS

Durante las últimas dos décadas se han diseñado gran cantidad de marcadores moleculares para cerdos, se calcula por ejemplo la presencia en su genoma de aproximadamente 1000 QTL asociados a la calidad de carne, distribuidos principalmente en 9 cromosomas (SSC2, SSC4, SSC5, SSC6, SSC7, SC11, SSC14, SSC15 y SSC17) de los 18 cromosomas autosómicos que tiene el cerdo (Davoli y Braglia, 2007).

Algunos de estos marcadores asocian polimorfismos de nucleótido simple (SNP) con características como contenido y composición de la grasa, terneza y la capacidad de retención de agua entre otras, que están relacionadas estrechamente con la calidad (Van der Steen *et al.*, 2005).

2.1.4.1 Calpastatina (CAST). Existe una relación substancial entre la calpastatina y otra enzima llamada calpaína. La calpaína es un enzima proteolítica dependiente de calcio, hay varios tipos de calpaína entre las que se destacan: la μ -calpaína y la m-calpaína, cuya diferencia radica en las concentraciones de Ca^{2+} necesario para su activación, concentraciones en μM y en mM , respectivamente. La calpastatina tiene como función inhibir la actividad proteolítica de la calpaína (Murphy, 2010).

Las calpaínas están compuestas por dos subunidades con un peso aproximado de 80 KDa y 28 KDa, y hacen parte del grupo de las Cistein proteasas, este grupo de proteasas ostentan una cisteína en su sitio activo que cumple una función muy importante en la catálisis enzimática. La calpaína a bajas concentraciones de Ca^{2+} puede autolisarse generando una pérdida de aproximadamente 2 KDa de la subunidad mayor (Chou *et al.*, 2011).

La calpastatina es un inhibidor competitivo, resistente a altas temperaturas y a varios agentes denaturantes como urea, SDS y ácido tricloroacético. Tiene al menos 4 isoformas y cada una posee un IC_{50} diferente, es decir, la concentración de calpastatina necesaria para inhibir el 50% de la enzima calpaína varía para cada isoforma (Goll *et al.*, 2003).

La unión calpastatina-calpaína es de tipo reversible y requiere Ca^{2+} , la concentración necesaria de Ca^{2+} varía según el tipo de calpaína a inhibir, sorprendentemente, si la calpaína presenta autólisis, la calpastatina demanda una menor concentración de Ca^{2+} que la necesaria para inhibir la enzima completa,

Revelando que posiblemente la autólisis juega un papel importante en la regulación de la actividad enzimática (Cottin *et al.*, 2001).

En el proceso de maduración de la carne, las proteasas desempeñan la función de fraccionar las proteínas que conforman las fibras musculares tales como titina desmina y vinculina, se instituye que la calpaína tiene un rol importante en este proceso (Koochmaraie y Geesink, 2006), por las siguientes razones: (1) Al incubar las fibras musculares con calpaína, se observan los mismos patrones proteólisis observados en maduración normal (Koochmaraie *et al.*, 1988). (2) La inyección de Ca^{2+} acelera la proteólisis muscular (Koochmaraie, 1990). (3) La adicción de inhibidores de la calpaína retardan el proceso de maduración (Uytterhaegen *et al.*, 1994).

En una investigación en ratones transgénicos que sobreexpresan el gen de calpastatina, se encontró que el proceso de maduración era más lento que en ratones con expresión normal del gen (Kent *et al.*, 2004). Mayor actividad de la μ -calpaína podría conducir a carne con mayor capacidad de retención de agua (Huff y Lonergan, 2005).

El gen CAST está ubicado en el brazo q del cromosoma 2 de los cerdos (SSC2) su tamaño aproximado es de 123.1 Kb y posee 35 exones, como ya se ha mencionado la calpastatina tiene varias isoformas producto del splicing alternativo al que puede ser sometido el ARNm de este gen (Meyers y Beever, 2008).

Se han encontrado varios QTL asociados a terneza cerca de la ubicación del gen CAST de cerdo (Meyers *et al.*, 2007), Se hallaron 896 polimorfismos en este gen, de los cuales 805 son SNP, 85 Indels y 6 microsatélites, 400 de estos polimorfismos se pudieron asociar a los QTL previamente encontrados (Meyers y Beever, 2008)

La sustitución Ser66Asn ubicada en un dominio altamente conservado de la enzima calpastatina podría estar relacionada con diferencias fenotípicas en la calidad de la carne (Ciobanu *et al.*, 2004). La sustitución de una Guanina por una Adenina en el intrón 6 del gen CAST ha sido asociada a un cambio en la actividad de la calpaína y con la calidad de la carne, no se ha comprendido la labor que cumple el intrón, posiblemente la mutación altere la expresión de gen, el splicing alternativo o interceda en la unión calpastatina-calpaína, el genotipo AA para este SNP muestra altos valores de autólisis de la μ -calpaína y a su vez muestra poca pérdida de agua (Gandolfi *et al.*, 2011).

2.1.4.2 Proteína Cardíaca de Unión a Ácidos Grasos (HFABP). Las siglas corresponden a su nombre en inglés (Heart-type Fatty Acid-Binding Protein). Es una proteína citosólica responsable del transporte de los ácidos grasos de cadena larga (AGCL) dentro de la célula, ya sea para su β -oxidación con el fin de obtener energía, o para la formación de triacilglicéridos o fosfolípidos (Gerbens, 2004). Además, mantiene el balance energético dentro del corazón y en tejidos, regula el desarrollo de tejidos adiposos y aumenta la sensibilidad célula a la insulina (Zhang *et al.*, 2013).

La proteína HFABP está involucrada en el desarrollo de la grasa intramuscular en porcinos, este tipo de grasa como se ha señalado antes está asociada con mejor palatabilidad de la carne (Li *et al.*, 2007). Usando microsatélites se hallaron varios QTLs para espesor de grasa dorsal y porcentaje de grasa intramuscular con alta significancia, éstos se encuentran próximos a la posición del gen FABP3 que codifica para la proteína HFABP (Óvilo *et al.*, 2002).

El gen FABP3 está localizado en el brazo q del cromosoma 6 (SSC6), la proteína HFABP está compuesta por 132 aminoácidos y tiene un peso aproximado de 15 KDa. Con análisis de similitud, se ha encontrado un sitio de unión a ácidos grasos

en aminoácido 127, esta proteína hace parte de la superfamilia de las calicinas junto a la familia de las lipocalinas y la familia de las avidinas (García *et al.*, 2007).

Gerbens *et al.* (1999) evaluó tres marcadores moleculares tipo SNP, mediante la técnica de PCR-RFLP, las enzimas de restricción utilizadas fueron: HinfI que cortaba sobre la región reguladora 5', MspI y HaeIII cortaban el intrón 2 del gen, los tres marcadores tiene inferencia sobre el contenido de IMF y EGD. Un estudio en cerdos de la Landrace y Large White, usando la enzima HinfI encontró asociación con IMF, EGD, el peso y los porcentajes de las partes principales de la carne (Urban *et al.* 2002).

El polimorfismo del intrón 2 es cortado por la enzima HaeIII cuando el individuo posee la sustitución G1811C. Estudios de miniselección evidenciaron la fijación del alelo G en el jabalí europeo y en una proporción moderada en la raza Duroc, y relacionaron la presencia de este alelo con un mayor contenido en IMF, mayor EGD y mayor peso corporal (Padilla *et al.*, 2010) (Gerbens *et al.*, 1999).

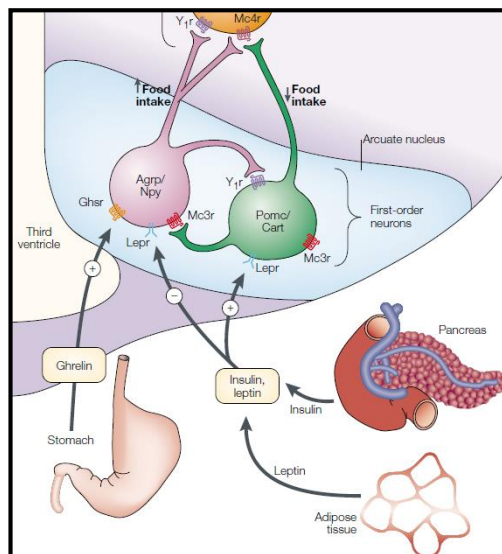
2.1.4.3 Receptor de Leptina (LEPR). La leptina en cerdos es una proteína compuesta por 167 aminoácidos, es producida en su mayoría por los adipocitos, su concentración en la sangre es proporcional a las reservas energéticas existentes, actúa sobre las neuronas POMC/CART y las neuronas AGRP/NPY presentes en el núcleo arcuato del hipotálamo (Jiménez *et al.*, 2012).

Las neuronas AGRP/NPY producen los péptidos orexígenos conocidos como proteína r-Agouti (AGRP) y el neuropéptido Y (NPY), ambos son estimulantes del apetito. El AGRP se une a los receptores de la melanocortina 4 (MC4R) inhibiendo su función, estimulando la ingesta de alimentos y la ganancia de peso; El NPY lleva su nombre por el último aminoácido de su cadena (Tirosina, Y), la adicción de este neuropéptido en ratones induce el aumento de la ingesta de alimentos y la ganancia de peso (Barsh *et al.*, 2002).

Las neuronas POMC/CART producen los péptidos anorxígenos como proopiomelanocortina (POMC) y el péptido transcripto regulado por cocaína y anfetamina (CART). El POMC es cortado enzimáticamente para formar la hormona estimulante de melanocitos α (α -MSH), que es un activador del receptor de la melanocortina 4 (MC4R), influyendo negativamente sobre el apetito y promoviendo la pérdida de peso; El CART es una proteína que procede de manera parecida a las anfetaminas y a la cocaína, su expresión ha sido fuertemente asociada con la inhibición del apetito (Barsh *et al.*, 2002).

El receptor de leptina en los cerdos consta de 1165 aminoácidos, está ubicada en la membrana celular de las neuronas, su función principal es recibir la leptina y servir de intermediario en la señalización celular. Los LEPR localizados en las neuronas POMC/CART en presencia de leptina inducen la expresión de los genes asociados con la sensación de saciedad y adicionalmente, los LEPR localizados en las neuronas AGRP/NPY en presencia de leptina impiden la expresión de los genes asociados que activan el apetito (Figura 15) (Óvilo *et al.*, 2010).

Figura 15. Proceso de señalización del Receptor de Leptina.



Fuente: (Barsh *et al.*, 2002)

Mutaciones en el gen del receptor de leptina se han asociado con obesidad en humanos (Liu *et al.*, 2004). En cerdos el gen está localizado en el cromosoma 6 (SSC6), existen varios polimorfismos en el exón 4, como la sustitución de la timina 221 por una citosina que ocasiona un cambio del codón AUG Metionina por ACG Treonina, también es conocida la mutación dinucleótida: T232A y C233T, por lo que se presentan cuatro posibles codones: TCA (Serina), ATA (Isoleucina), TTA (Leucina) y ACA (Treonina) (Mackowski *et al.*, 2005).

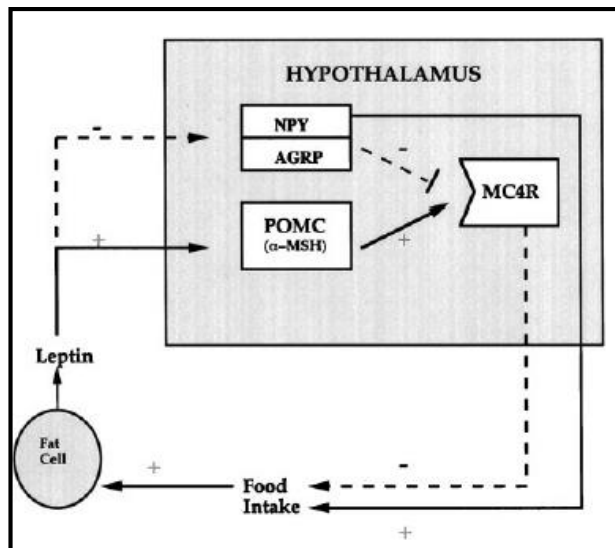
Estas mutaciones han sido detectadas utilizando la técnica de SSCP (Mackowski *et al.*, 2005) y Padilla *et al.* (2010) empleando minisequenciación encontró fijado el genotipo TC en la raza Ibérica y en los jabalíes.

2.1.4.4 Receptor de Melanocortina 4 (MC4R). Es una proteína de la familia de los receptores acoplados a proteínas G (GPCR), se han encontrado al menos cinco tipos de receptores de melanocortina, MC1R es expresada exclusivamente en los melanocitos y regula la pigmentación de la piel; MC2R es expresada en la corteza adrenal y es responsable de la síntesis de la hormona adrenocorticotropa (ACTH); MC5R es expresada en células musculares y glándulas exocrinas; MC3R y MC4R se expresan en mayor proporción en las células del cerebro, siendo MC4R la de mayor distribución y al ser activada por AGRP estimula la ingesta de alimentos y cuando es inhibida por α -MSH ejerce el efecto contrario (Figura 16) (Wardlaw, 2001).

En cerdos la proteína tiene un tamaño de 332 aminoácidos y tiene siete dominios transmembranales bien conservados. El gen está ubicado en el brazo q del cromosoma 1 (SSC1) y la cadena codificante es la minus o negativa.

Una mutación en este gen en humanos es la responsable de un tipo de obesidad monogénica dominante (Vaisse *et al.*, 2000) y en los cerdos se ha hallado una relación entre el EGD, el crecimiento y el consumo de alimentos con la sustitución G426A, que ocasiona el cambio de Asp298Arg (Kim *et al.*, 2000).

Figura 16. Proceso de señalización del Receptor de Melanocortina 4.



Fuente: (Wardlaw, 2001)

Se han empleado las técnicas de RFLP y PCR-RFLP con la enzima de restricción TaqI para determinar el SNP G1426A (Hernández *et al.*, 2003) (Óvilo *et al.*, 2006) y la minisequenciación (Padilla *et al.*, 2010). Se determinó que en cerdos de cinco razas distintas (Landrace Polaco, Duroc, Large White Polaco, Puławska y Pietrain) el alelo AA está relacionado con un aumento en la ganancia de peso diaria y en EGD, y el alelo GG está involucrado con un aumento en la grasa intramuscular (Piórkowska *et al.*, 2010).

Otros autores como Park *et al.*, (2002), Stachowiak *et al.*, (2006), Muñoz *et al.*, (2011) y Stinckens *et al.* (2009) no encontraron relaciones significativas entre alguno de los dos alelos del MC4R y variables de calidad de la carne.

2.1.4.5 Subunidad γ 3 de la Proteína Quinasa Activada por AMP (PRKAG3). La proteína quinasa activada por AMP (AMPK) tiene un papel muy importante en la homeostasis energética en los eucariotas, está compuesta por tres subunidades: La subunidad α (alfa) cumple la función catalítica, mientras que la subunidad β (beta)

y la subunidad γ (gamma) cumplen funciones de tipo regulatorio. En mamíferos hay tres isoformas de la subunidad γ , de las cuales la γ_3 codificada por el gen PRKAG3 es la más destacada (Ciobanu *et al.*, 2001).

En condiciones de bajas reservas energéticas, la concentración de AMP aumenta consecuencia del consumo de ATP, el AMP procede a activar la enzima AMPK que realiza la fosforilación de las enzimas metabólicas, de esta manera promueve el funcionamiento de las rutas productoras de energía (glucólisis y β -oxidación) e inhibe las rutas que consumen energía (proliferación celular y biosíntesis de lípidos) (Ciobanu *et al.*, 2001).

EL gen PRKAG3 está ubicado en el brazo q del cromosoma 15 del cerdo (SSC15), codifica para una proteína de 514 aminoácidos y posee dos isoformas (Škrlep *et al.*, 2010).

Se ha documentado el cambio de la Arg200Gln, los individuos con la glutamina tienen baja capacidad de retención de agua y bajo rendimiento para los embutidos, esto se debe a un aumento del 70% del glucógeno dentro del músculo, este genotipo solo ha sido encontrado en cerdos de la raza Hampshire (Milan *et al.*, 2000).

En este gen se presentan también varias sustituciones como Thr30Asn, Ile199Val y Gly52Ser. La sustitución Ile199Val se debe al cambio del codón AUC por GUC, se ha determinado que influye sobre el pH de la carne y esta correlacionado con la capacidad de retención de agua y la ternesa (Škrlep *et al.*, 2010). Las técnicas utilizadas para determinar este polimorfismo es la PCR-RFLP usando la enzima BsaHI (Weisz *et al.*, 2010) (Chalupová *et al.*, 2012).

2.1.4.6 Receptor de Rianodina 1 (RYR1). Los receptores de rianodina son canales liberadores de Ca^{2+} , presentes en las células musculares, su descubrimiento fue

gracias a que su función se inhibe con el alcaloide rianodina extraído de la planta tropical *Ryania speciosa*, razón por la cual se la asignó el nombre a la proteína.

En mamíferos se han identificado 3 isoformas del receptor de rianodina, cada una codificada por un diferente gen, los genes entre sí comparten un 70% de homología en la secuencia (Rossi y Sorrentino, 2002). La isoforma RYR2 está presente en el músculo cardíaco, mientras que las otras dos isoformas RYR1 y RYR3 se encuentran en todos los músculos esqueléticos. Investigaciones realizando knockout de estos dos genes en ratones, evidenció que los ratones sin la expresión del RYR3 no tenían problemas en los procesos de contracción muscular, por otro lado, si los ratones no expresaban RYR1 ocurría una falla total en el desarrollo muscular y en los procesos de contracción muscular (Barone *et al.*, 1998).

El retículo sarcoplasmático (RS) es una organela presente en todas las células musculares y almacena grandes concentraciones de Ca^{2+} , este ion es fundamental en el proceso de contracción muscular, pues estimula el complejo proteico actina-miosina (Lanner *et al.*, 2010). El receptor de rianodina está ubicado específicamente sobre la membrana del RS y controla la salida del ion (Figura 17). Muchas sustancias pueden modular la actividad de RYR1, algunas de origen endógeno como la calmodulina, Proteína quinasa C (PKC), y iones como Ca^{2+} , Mg^{2+} , H^+ y Fe^{2+} entre otras; y agentes externos como rianodina, cafeína y halotano (Rossi y Sorrentino, 2002).

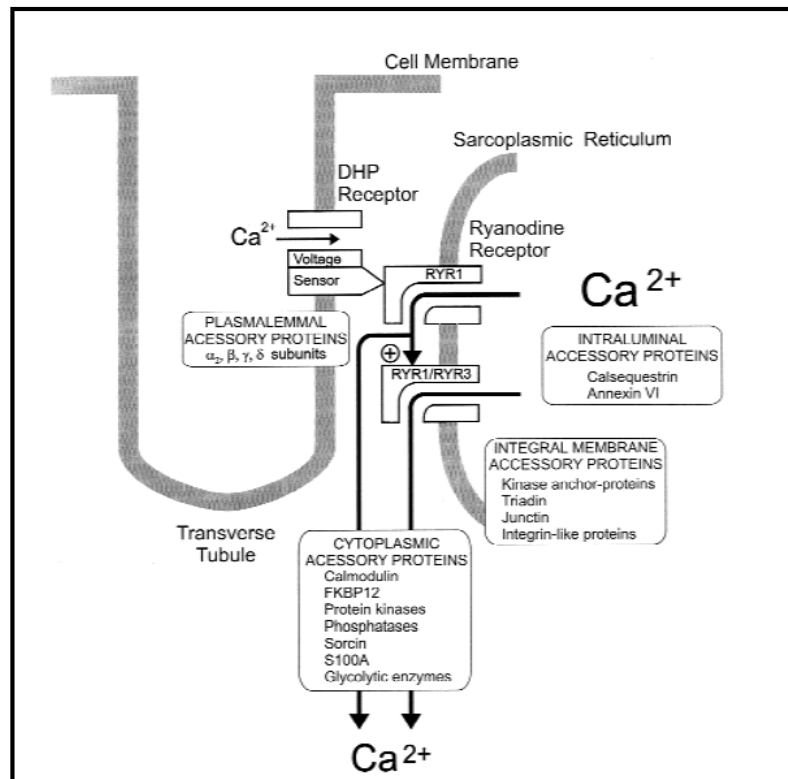
El gen RYR1 cuenta con 25 exones y traduce para una proteína de 5035 aminoácidos, está posicionado en el cromosoma 6 (SSC6) a unos 38 millones de pares de bases del gen FABP3.

Durante el siglo XX los criadores de cerdos relacionaron excelentes conformaciones musculares con el gen denominado HAL (en la actualidad se le conoce como RYR1) que confería resistencia al anestésico halotano y que tenía un comportamiento tipo

mendeliano; La asociación fue descrita en gran parte de los cerdos de la raza Pietrain, sin embargo, la condición denominada síndrome de estrés porcino que ocasiona carne de tipo PSE (Pálida, Suave y Exudativa) también está asociada a este gen (Jurkat-Rott *et al.*, 2000).

Luego de estas investigaciones se descartó su uso en el mejoramiento genético dado que el fenotipo deseado correspondía al genotipo heterocigoto (Tabla 14), en la actualidad, los procesos de mejoramiento pretenden erradicar el alelo n de la población de cerdos (Barbut *et al.*, 2008).

Figura 17. Funcionamiento del Receptor de Rianodina 1.



Fuente: Jurkat-Rott *et al.*, 2000.

El síndrome de estrés porcino o hipertermia maligna es una enfermedad con gran impacto sobre la industria ya que es la causante de la mayoría de las muertes de

cerdo durante el transporte. Los cerdos con este síndrome tienen falla cardíaca aguda, degeneración del músculo esquelético y su carne tiene apariencia pálida, suave y exudativa, el síndrome es evidente cuando el cerdo es sometido a cualquier tipo de estrés físico, psicológico o farmacológico (Bonelli y Schifferli, 2001)

Tabla 14. Genotipos para el gen RYR1.

Genotipo	Fenotipo	Halotano	PSE
TT	Deseado	Resistente	Susceptible
CT	Deseado	Susceptible	Resistente
CC	Indeseado	Susceptible	Resistente

(Bonelli y Schifferli, 2001)

Se ha documentado que la sustitución C1843T en el exón 17, ocasiona el cambio de una Arg (aminoácido polar) por una Cys (aminoácido no polar), el cambio de polaridad posiblemente altere el plegamiento del dominio B30.2/SPRY que está involucrado en interacciones proteína-proteína (Woo *et al.*, 2006).

Se han empleado varias técnicas moleculares para determinar este SNP entre las que se destacan la PCR-RFLP utilizando la enzima HhaI, en donde la aparición de una banda coincide con el genotipo homocigoto TT, tres bandas corresponden a heterocigoto CT y dos bandas corresponden a homocigoto CC (Hernández *et al.*, 2008)(Ruan *et al.*, 2013). La técnica de SSCP también ha mostrado excelentes resultados (Castro *et al.*, 2011), La técnica de minisequenciación demostró alta confiabilidad (Carolino *et al.*, 2007) (Padilla *et al.*, 2010).

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 EXTRACCIÓN DE ADN

Se empleó el protocolo de extracción ADN de músculo con Fenol Cloroformo del Laboratorio de Genética Molecular Animal de CORPOICA. Se tomaron 100g de músculo y se maceró con la ayuda de nitrógeno líquido.

Para el procesamiento se tomaron aproximadamente 250µl de macerado de músculo por muestra, dejando el tejido toda la noche en el baño serológico a 56°C, en presencia de buffer de extracción de semen y Proteinasa K (Sigma, USA). Se empleó la separación líquido-líquido para el ADN, utilizando las siguientes combinaciones de solventes Fenol, Cloroformo y Alcohol isoamílico (25:24:1), se repitió dos veces retirando siempre la fase superior, al final se utilizó Cloroformo y Alcohol isoamil (24:1) una vez. Se condensó el ADN con etanol absoluto y acetato de sodio, se centrifugó el pellet y se dejó secar a temperatura ambiente, luego se almacenó en el ultracongelador a -70°C.

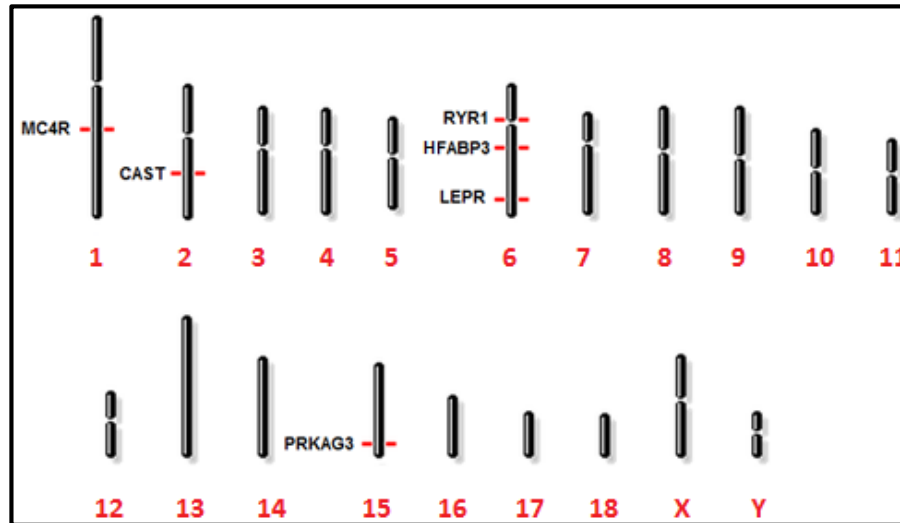
Posteriormente se disolvió el pellet en 200µl de agua ultrapura y se procedió a cuantificar el ADN mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 260nm y la evaluación de contaminación con proteína a 280nm en el espectrofotómetro NanoDrop ND-2000 (Thermo Fischer Scientific Inc., USA). Todos los ADN fueron diluidos a una concentración de 150ng/ul y se almacenaron a -70°.

2.2.2 DISEÑO Y EVALUACIÓN DE PRIMERS

Se eligieron 8 SNP presentes en seis genes, todos asociados en la literatura con características de calidad de carne, los genes escogidos fueron CAST, HFABP (FABP), LEPR, MC4R, PRKAG3 y RYR1 ubicados en los cromosomas 1, 2, 6 y 15

del cerdo, en la Figura 18 se muestra la ubicación de los marcadores dentro del cariotipo.

Figura 18. Locus de los genes escogidos.



Fuente: Autor.

Mediante la herramienta BLAST (NCBI BLAST, 2012) se encontraron los números de GenBank (GenBank accession number) para cada gen, se identificaron los SNP dentro de la secuencia, en los casos donde se utilizaban marcadores moleculares RFLP se determinó el sitio exacto del SNP con el programa Restriction mapper (Blaiklock, 2012) (Tabla 15).

Tabla 15. Identificación del GenBank para los genes y los SNP analizados.

Gen	Secuencia	SNP	Referencia
CAST	EU137105.1	G76872A	Gandolfi <i>et al.</i> , 2011.
HFABP	HM591296.1	C1811G	Gerbens <i>et al.</i> , 1999.
LEPR	NM_001024587.1	T221C,T232A,C233T	Mackowski <i>et al.</i> , 2005.
MC4R	NM_214173.1	G1426A	Kim <i>et al.</i> , 2000.
PRKAG3	NC_010457.4	G3063A	Ciobanu <i>et al.</i> , 2001.
RYR1	Z49778.1	T1843C	Fujii <i>et al.</i> , 1991.

2.2.2.1 Primers de Amplificación. Para la selección de los primers de amplificación de cada gen se tuvo en cuenta los siguientes parámetros: longitud del fragmento

amplificado menor a 500 pb, porcentaje de Guanina/Citosina (%G/C) mayor al 50%, diferencias de temperatura de fusión (T_M) entre pares de primers de 2°C, autocomplementariedad menor a 4 pb y sin potencial de formación de harpins, los valores se determinaron con el programa OligoCalc (Northwestern University, 2012).

Se evaluaron primers referenciados en la literatura y los faltantes se diseñaron con el programa Primer BLAST (NCBI PRIMER BLAST, 2012). Todos los primers fueron cuantificados en el espectrofotómetro NanoDrop ND-2000 (Thermo Fischer Scientific Inc., USA) y fueron diluidos a una concentración de 6.25uM con agua ultrapura (Tabla 16).

Tabla 16. Primers de amplificación.

Nombre	SNP	Secuencia	Pb	Referencia
FRYR1	T1843C	5'-CGCTTTCACCACTCTTCTCA-3'	21	Stinckens <i>et al.</i> , 2007.
RRYR1		5'-ACAAGCTGGGACAAGCACGA-3'	20	
FHFABP	C1811G	5'-ATTGCCTTCGGTGTGTTTGTAG-3'	21	Gerbens <i>et al.</i> , 1999.
RHFABP		5'-CATTCCCATTCCCCAGCTT-3'	20	Autor
FMC4R	G1426A	5'-TTGATTGGGGTCTTTGTGGT-3'	20	Padilla <i>et al.</i> , 2010.
RMC4R		5'-TTGAAGTTTTCTCAGTTCTTG-3'	23	
FLEPR	T221C	5'-CTCTTGCCTGCTGGAATCTC-3'	20	Padilla <i>et al.</i> , 2010.
RLEPR	T232A			
FCAST	G76872A	5'-AATGAGCAGCCAACATCAGA-3'	20	Gandolfi <i>et al.</i> , 2011.
RCAST		5'-TTCCCATAGCCCAAGAAG-3'	20	
FPRKAG3	G3063A	5'-GGAGCAAATGTGCAGACAAG-3'	20	Weisz <i>et al.</i> , 2010.
RPRKAG3		5'-CCCACGAAGCTCTGCTTCTT-3'	20	

2.2.2.2 Primers de Extensión. Se diseñaron primers específicos a cada SNP cuyo extremo 3' está a una distancia de un nucleótido del SNP. Para poder visualizar los SNP en el secuenciador los tamaños de estos primers deben ser diferentes, por esta razón en el extremo 5' se les añadió una cola de polyA de diferente longitud (Tabla 17). A partir de la secuencia de ADN de los genes PRKAG3 y CAST se

diseñaron los siguientes primer de extensión: 5'-CCACAAAGGTGCCGCTCGGA-3' y 5'-CATTACTCCACAAGCTCTGCGGATT-3' respectivamente.

Tabla 17. Primers de extensión.

Nombre	SNP	Secuencia	Secuencia	Referencia
PRKAG3Shot	G3063A	5'-CCACAAAGGTGCCGCTCGGA-3'	<i>Minus</i>	Autor
RYR1Shot	T1843C	5'-GTGCAATGGTGTGGCCGTG-3'	<i>Plus</i>	Carolino <i>et al.</i> , 2007.
CASTShot	G76872A	5'-CATTACTCCACAAGCTCTGCGGATT-3'	<i>Minus</i>	Autor
MC4Shot	G1426A	5'-CGGAGTGCATAAATCAGGGGAT-3'	<i>Minus</i>	Civánová <i>et al.</i> , 2007.
HFABPSShot	C1811G	5'-CGCCAACAGTTCTATGGGATG-3'	<i>Plus</i>	Padilla <i>et al.</i> , 2010.
LEPRH1Shot	T221C	5'-GACATGATGAGGCAGTTGTTGAAA-3'	<i>Plus</i>	Padilla <i>et al.</i> , 2010.
LEPRH3Shot	C233T	5'-AGAAGATAAGTTTGATAAGTAGGTACCACTT-3'	<i>Minus</i>	Padilla <i>et al.</i> , 2010.
LEPRH2Shot	T232A	5'-GTTGTTGAAACGGAACCTAAT-3'	<i>Plus</i>	Padilla <i>et al.</i> , 2010.

Secuencia: Sentido de la cadena de ADN (*Plus*: cadena principal y *Minus*: Cadena complementaria).

2.2.3 REACCIÓN EN CADENA DE POLIMERASA (PCR)

Para la realización de la PCR se utilizaron 2µl de dNTPs, 0.1µl de Taq polimerasa Platinum® (Invitrogen, USA), 1µl del primer Forward y 1µl del primer reverse (Invitrogen, USA) a 6.25 µM y se empleó 2.5ul de ADN extraído del musculo.

Para cada marcador se experimentó tres diferentes concentraciones de MgCl₂, la primera fue 2.4 mM, la segunda 4 mM y la tercera 6 mM, que corresponden a adicionar 0.6µl, 1.0µl y 1.5µl de MgCl₂ a 50 mM respectivamente; finalmente se completó el volumen final de 12.5µl con agua ultrapura (Tabla 18).

Tabla 18. Reactivos de la PCR.

Componentes	Cantidad (µl)		
dNTPs	2		
Taq Polimerasa	0.1		
Primer Forward	1		
Primer Reverse	1		
ADN	2.5		
MgCl ₂	0.6	1	1.5
Agua	5.3	4.9	4.4

El termociclador empleado fue PTC-100 (Bio-Rad Laboratories, USA) y se utilizó el programa estándar del Laboratorio de Genética Molecular Animal (Tabla 19), la T_M teórica obtenida programa OligoCalc (Northwestern University, 2012) se empleó para cada pareja de primers de amplificación. La amplificación se confirmó en geles de 7% de poliacrilamida:bisacrilamida (29:1) y se utilizó el marcador de peso molecular DNA HyperLadder IV (Bioline, USA) para verificar el tamaño del fragmento amplificado, finalmente fue realizado el proceso de revelado con nitrato de plata 1X.

Tabla 19. Programa del termociclador para la PCR.

Etapas	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Ciclos
1	95	240	1
2	95	30	35
	T_M	60	
	72	90	
3	72	600	1

2.2.4 MINISECUENCIACIÓN

Los seis productos de PCR de cada animal, son mezclados (formando la Mix de PCR) y purificados con la enzima ExoSAP (Affymetrix, USA); a su vez se realiza la Mix de Primers con la mezcla de los ocho primers de extensión y finalmente se empleó la Mix Ready Reaction del kit de SNaPshot® Multiplex™ (Applied Biosystems, USA) que incluye los ddNTP, la Taq polimerasa y el buffer (Tabla 20). La reacción de minisequenciación se realizó en el termociclador PTC-100 (Bio-Rad Laboratories, USA) con la unión de las tres mix.

Tabla 20. Reactivos de la minisequenciación.

Componentes	Cantidad (µl)
Mix Ready Reaction	4
Mix PCR Purificada	3
Mix de Primers de Extensión	1.5
Agua	1.5

Las cantidades de la mezcla de primers y la mezcla de PCR son modificadas para lograr obtener picos de alelos sin exceso de fluorescencia. El protocolo de temperatura que se utilizó fue suministrado por el proveedor del kit (Applied Biosystems, USA) (Tabla 21). El producto de la minisequenciación fue purificado con la enzima SAP (Affimetrix, USA).

Tabla 21. Programa del termociclador para la minisequenciación.

Etapas	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Ciclos
1	96	10	
2	50	5	25
3	60	30	

La determinación de cada genotipo se realizó de forma manual por electroforesis capilar en el Analizador Genético ABI Prism 310 (Applied Biosystems, USA) con el programa de corrido 310 Data Collection versión 3.1 (Applied Biosystems, USA) con fase móvil el buffer 10X (EDTA) y con POP4 (Applied Biosystems, USA) como fase estacionaria; se utilizó LIZ[®]-120 (Applied Biosystems, USA) como marcador de peso molecular y Formamida HiDi (Applied Biosystems, USA) para denaturar la cadena de ADN; los datos se analizaron en el programa GeneMapper 4.1 (Applied Biosystems, USA).

Para comprobar la veracidad de los resultados del proceso de SNaPshot, se realizó la secuenciación de dos fragmentos amplificados de cada gen y se compararon los resultados. La secuencia exacta del amplificado fue determinada con el alineamiento en el programa Bioedit (Ibis Biosciences, USA) de la secuencia obtenida con el primer forward y la secuencia con el primer reverse.

La reacción de secuenciación empleó uno de los dos primers de amplificación; la PCR fue purificada con la enzima ExoSAP y se utilizó el kit BigDye terminator[®] (Applied Biosystems, USA) (Tabla 22); Se utilizó el protocolo establecido por el kit

en el termociclador PTC-100 (Bio-Rad Laboratories, USA) (Tabla 23) y posteriormente se purificó el producto con el reactivo Xterminator (Applied Biosystems, USA).

Tabla 22. Reactivos de la secuenciación.

Componentes	Cantidad (µl)
Secuencing RR-100	4
PCR purificada	3
Agua	1.5
Primer de amplificación	1.5

La electroforesis capilar se realizó en el Analizador Genético ABI Prism 310 (Applied Biosystems, USA), con POP4 y buffer 10X (Applied Biosystems, USA), los datos fueron interpretados con el programa Sequencing Analysis v.5.4 (Applied Biosystems, USA).

Tabla 23. Programa del termociclador para la secuenciación.

Etapas	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Ciclos
1	96	60	1
	96	10	
2	50	5	25
	60	240	

2.2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

2.2.5.1 Frecuencia genotípica. Se determinaron las frecuencias de los genotipos dentro de la población con la siguiente fórmula:

$$Frecuencia\ del\ Genotipo = \frac{N^{\circ}\ de\ Animales\ con\ el\ Genotipo}{N^{\circ}\ Total\ de\ Animales}$$

2.2.5.2 Frecuencias alélicas. Las frecuencias alélicas para un SNP cuya sustitución hipotética es A/G, se utilizan las siguientes fórmulas:

Frecuencia alélica del SNP sin la sustitución:

$$FA(A) = \frac{2 * (N^{\circ} \text{ de Animales Homocigotos (AA)}) + (N^{\circ} \text{ de individuos Heterocigotos para (AG)})}{2 * (N^{\circ} \text{ Total de Animales})}$$

Frecuencia alélica del SNP con la sustitución:

$$FA(G) = \frac{2 * (N^{\circ} \text{ de Animales Homocigotos (GG)}) + (N^{\circ} \text{ de individuos Heterocigotos para (AG)})}{2 * (N^{\circ} \text{ Total de Animales})}$$

2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1 EXTRACCIÓN DE ADN Y PCR

2.3.1.1 Extracción de ADN. Se logró extraer correctamente el ADN de todos los animales con valores de concentración de las muestras superiores a los 150 ng/ μ l (Anexo 10), la relación de entre las absorbancias a 260/280 se mantuvo entre 1.7 y 2.1 para todas las muestras.

2.3.1.2 Evaluación de los Primers de Amplificación. Se utilizaron primers de amplificación reportados en la literatura para estos genes, en el caso de HAFBP se diseñó el primer reverse para generar un fragmento amplificado (FA) más pequeño, ya que el referenciado tenía un tamaño de 816 pb, en general los fragmentos amplificados no superan los 500 pb.

El análisis de los primers evidenció nula posibilidad de formación de harpins de más de 4 pb, el porcentaje de G/C fue cercana al 50% y sus T_M se estimaron con PrimerBlast escogiéndose los que tenían valores entre 57 y 62°C (Tabla 24).

Tabla 24. Evaluación de los primers de Amplificación.

Nombre	Secuencia	Pb	T_M	%G/C	FA
FRYR1	5'-CGCTTTCACCACCTCTTCTCA-3'	21	60.2	52	427
RRYR1	5'-ACAAGCTGGGACAAGCACGA-3'	20	62.3	55	
FHFABP	5'-ATTGCCTTCGGTGTGTTTGAG-3'	21	59.3	48	465
RHFABP	5'-CATTCCCATTCCCCAGCTT-3'	20	60	55	
FMC4R	5'-TTGATTGGGGTCTTTGTGGT-3'	20	57.2	45	194
RMC4R	5'-TTGAAGGTTTTCTCAGTTCTTG-3'	23	57.1	39	
FLEPR	5'-CTCTTGCCTGCTGGAATCTC-3'	20	58.3	55	190
RLEPR	5'-CCTTCCCTGCAATGTTGTCT-3'	20	58	50	
FCAST	5'-AATGAGCAGCCAACATCAGA-3'	20	57.5	45	376
RCAST	5'-TTCCCATAGCCCACAAGAAG-3'	20	57.1	50	
FPRKAG3	5'-GGAGCAAATGTGCAGACAAG-3'	20	57.6	50	258
RPRKAG3	5'-CCCACGAAGCTCTGCTTCTT-3'	20	60.3	55	

2.3.1.3 Determinación de las Condiciones Óptimas de las PCR. Al evaluar diferentes concentraciones de $MgCl_2$ y varias T_M se determinaron las condiciones

óptimas de amplificación para todos las parejas de primers (Tabla 25), en los geles de poliacrilamida se analizó que el tamaño de los fragmentos correspondiera al estimado *a priori* (Anexo 11). Para RYR1 fue necesario utilizar la Taq polimerasa Biolase (Bioline, USA) con el objetivo de mejorar la especificidad de la PCR.

Tabla 25. Condiciones óptimas de amplificación.

Gen	T _M	MgCl ₂	Polimerasa
CAST	57	2.4 mM	Invitrogen
HFABP	59	2.4 mM	Invitrogen
LEPR	59	4 mM	Invitrogen
MC4R	59	4 mM	Invitrogen
PRKAG3	59	4 mM	Invitrogen
RYR1	59	4 mM	Bioline

2.3.1.4 Verificación de las Amplificaciones. Todas las PCR fueron realizadas para las tres razas y su amplificación fue confirmada por medio de electroforesis (Anexo 11).

Adicionalmente, se encontró que el marcador HFABP no era amplificado en cuatro individuos de la raza Zungo (Z1834, Z1836, Z1852 y Z1853) y el marcador RYR1 para (Z1853) incluso modificando el protocolo y las concentraciones de los reactivos los resultados fueron infructuosos.

2.3.2 ESTANDARIZACIÓN DE LA MINISECUENCIACIÓN

2.3.2.1 Diseño de los Primers de Extensión. Se emplearon primers referenciados en la literatura y para los genes CAST y PRKG3 se diseñaron utilizando la secuencia anexada en el GenBank.

Los primers para PRKAG3, CAST, M4CR y LEPRH2 fueron diseñados a partir de la cadena *Minus*, por esta razón el SNP se evidencia con los nucleótidos complementarios (Tabla 26). Los primers de extensión se diferenciaron por tamaño

con la adición de adeninas en su extremo 5', manteniéndose una distancia mínima de cuatro nucleótidos.

Tabla 26. Evaluación de los primers de Amplificación.

Nombre	SNP	Secuencia	Pb	S.	G.	Referencia
PRKAG3Shot	G3063A	5'-(A ₇)CCACAAAGGTGCCGCTCGGA-3'	30	Minus	C/T	Autor
RYR1Shot	T1843C	5'-(A ₁₆)GTGCAATGGTGTGGCCGTG-3'	35	Plus	C/T	Carolino <i>et al.</i> , 2007.
CASTShot	G76872A	5'-(A ₁₈)CATTACTCCACAAGCTCTGCGGATT-3'	43	Minus	C/T	Autor
MC4Shot	G1426A	5'-(A ₂₅)CGGAGTGCATAAATCAGGGGAT-3'	47	Minus	C/T	Civáňová <i>et al.</i> , 2007.
HFABPSHOT	C1811G	5'-(A ₃₀)CGCCAACAGTTCTATGGGATG-3'	51	Plus	C/G	Padilla <i>et al.</i> , 2010.
LEPRH1Shot	T221C	5'-(A ₃₁)GACATGATGAGGCAGTTGTTGAAA-3'	55	Plus	C/T	Padilla <i>et al.</i> , 2010.
LEPRH3Shot	C233T	5'-(A ₂₉)AGAAGATAAGTTTGATAAGTAGGTACCACTT-3'	60	Minus	A/G	Padilla <i>et al.</i> , 2010.
LEPRH2Shot	T232A	5'-(A ₄₄)GTTGTTGAAACGGAACCTTAAT-3'	65	Plus	A/T	Padilla <i>et al.</i> , 2010.

G. Corresponde a los dos posibles genotipos visualizados en el secuenciador.

S. Sentido de la cadena de ADN (*Plus*: cadena principal y *Minus*: Cadena complementaria).

2.3.2.2 Determinación de las Condiciones Óptimas de la Minisequenciación.

Esto se logró con la determinación de la adecuada composición de las mix de PCR y la mix de primers de extensión. La mix de primers de extensión adecuada se logró al modificar la concentración y la cantidad de cada uno de los primers queda almacenada en la Tabla 27.

La Mix de PCR apropiada para el proceso se logró variando el volumen de cada producto de PCR utilizado, manteniendo como volumen final 15 µl, las cantidades quedan registradas en la Tabla 28.

Tabla 27. Volumen y concentración de la mix de primers de extensión.

Nombre	Cantidad	Concentración
PRKAG3Shot	14 µl	12.5 µM
RYR1Shot	14 µl	25 µM
CASTShot	16 µl	25 µM
MC4RShot	18 µl	12.5 µM
HFABPSHOT	17.2 µl	50 µM
LEPRH1Shot	2.8 µl	12.5 µM
LEPRH3Shot	2 µl	12.5 µM
LEPRH2Shot	16 µl	25 µM
Total	100 µl	

Tabla 28. Volúmenes para mix de PCR.

Nombre	Cantidad
CAST	3 μ l
HFABP	4 μ l
LEPR	2 μ l
MC4R	2 μ l
PRKAG3	2 μ l
RYR1	2 μ l
Total	15 μl

2.3.2.3 Validación de Resultados. Se evaluó el animal CM1129 con las condiciones óptimas de minisequenciación halladas (Anexo 12), logrando visualizar todos los ocho genotipos y se verificaron satisfactoriamente con la secuenciación de los fragmentos.

2.3.3 GENOTIPADO POR MINISECUENCIACIÓN

Se realizó la minisequenciación para los ocho SNP en 63 animales, para el marcador HFABP en la raza Zungo el número total de individuos fue 18 por el descarte de los 4 animales que no amplificaron, al igual que el marcador RYR1 en la misma raza descartándose un animal (Tabla 29).

Todos genotipos visualizados en el GenMapper 4.1 (Applied Biosystems, USA) se recopilaron (Anexo 13); los resultados de los marcadores diseñados con la cadena Minus son transformados a la cadena Plus y se realizó el análisis de frecuencia alélica y genotípica para cada raza y quedo resumida en la Tabla 29. Adicionalmente se analizaron los alelos deseados para cada marcador según la información encontrada en la literatura (Tabla 30).

Tabla 29. Genotipos y frecuencias alélicas en las razas criollas colombianas.

Marcador	n	Genotipo			Frecuencias Genotípicas			Frecuencias Alélicas	
		AA	AG	GG	AA	AG	GG	A	G
CAST									
Casco de Mula	21	4	4	13	0.190	0.190	0.619	0.286	0.714
San Pedreño	20	3	8	9	0.150	0.400	0.450	0.350	0.650
Zungo	22	10	10	2	0.455	0.455	0.091	0.682	0.318
HFABP									
Casco de Mula	21	1	14	6	0.048	0.667	0.286	0.381	0.619
San Pedreño	20	12	8	0	0.600	0.400	0.000	0.800	0.200
Zungo	18	5	7	6	0.278	0.389	0.333	0.472	0.528
LEPRH1									
Casco de Mula	21	2	9	10	0.095	0.429	0.476	0.310	0.690
San Pedreño	20	0	2	18	0.000	0.100	0.900	0.050	0.950
Zungo	22	1	1	20	0.045	0.045	0.909	0.068	0.932
LEPRH2									
Casco de Mula	21	5	12	4	0.238	0.571	0.190	0.524	0.476
San Pedreño	20	0	0	20	0.000	0.000	1.000	0.000	1.000
Zungo	22	0	2	20	0.000	0.091	0.909	0.045	0.955
LEPRH3									
Casco de Mula	21	5	15	1	0.238	0.714	0.048	0.595	0.405
San Pedreño	20	19	1	0	0.950	0.050	0.000	0.975	0.025
Zungo	22	20	2	0	0.909	0.091	0.000	0.955	0.045
MC4R									
Casco de Mula	21	8	12	1	0.381	0.571	0.048	0.667	0.333
San Pedreño	20	0	4	16	0.000	0.200	0.800	0.100	0.900
Zungo	22	0	4	18	0.000	0.182	0.818	0.091	0.909
PRKAG3									
Casco de Mula	21	0	0	21	0.000	0.000	1.000	0.000	1.000
San Pedreño	20	0	0	20	0.000	0.000	1.000	0.000	1.000
Zungo	22	0	0	22	0.000	0.000	1.000	0.000	1.000
RYR1									
Casco de Mula	21	3	6	12	0.143	0.286	0.571	0.286	0.714
San Pedreño	20	5	11	4	0.250	0.550	0.200	0.525	0.475
Zungo	21	3	2	16	0.143	0.095	0.762	0.190	0.810

Tabla 30. Genotipos deseados para cada marcador molecular tipo SNP.

Nombre	Alelo Deseado
PRKAG3	A
RYR1	C
CAST	A
MC4R	A
HFABP	G
LEPRH1	C
LEPRH2	T
LEPRH3	C

Fuente: (Gandolfi *et al.*, 2011) (Gerbens *et al.* 1999) (Nitipongsuwan y Mekchay, 2015) (Piórkowska *et al.*, 2010) (Sun *et al.* 2009) (Ciobanu *et al.*, 2001) (Fujii *et al.*, 1991)

2.3.3.1 Frecuencias genotípicas y alélicas para el marcador CAST. El alelo deseado A asociado con menor pérdida de agua en la carne se encuentra en mayor proporción en los cerdos Z 68.2% aunque presenta un porcentaje alto de individuos heterocigotos AG de 45.5%. En las otras dos razas este mismo alelo (A) se encuentra en el 28.6% para CM y 35% para SP.

El genotipo AA se encuentra en el 19% y 15% para las razas CM y SP respectivamente, en los cerdos Z se encuentra en 45.5%; en comparación con razas comerciales una investigación con cerdos Duroc italiano x (Landrace x Large White) encontró que el genotipo AA esta tan solo en 10% y el alelo A en 33.8% (Gandolfi *et al.*, 2011).

Es de importancia la presencia del alelo deseado A en todas las razas analizadas, ya que este marcador permitiría el desarrollo de un programa de mejoramiento genético de las razas criollas sin la necesidad de realizar cruzamientos con razas comerciales.

2.3.3.2 Frecuencias genotípicas y alélicas para el marcador HFABP. La raza CM tiene el alelo G en mayor cantidad 61.9% sin embargo, el porcentaje de

heterocigotos CG es amplio 66.7% y con tan solo un 4.8% del genotipo CC. La raza SP carece de individuos GG y tiene un 60% del genotipo CC y 40% del genotipo heterocigoto CG, lo que indica la fijación del alelo C en la población con un 80%, esta frecuencia alélica es similar a la obtenida en cerdos de la raza ibérica, mientras la frecuencia alélica de las razas CM y Z se asemeja a la obtenida en cerdos Duroc (Padilla *et al.*, 2010); La raza Z tiene los dos alelos en similar proporción, con el 38.9% de individuos heterocigotos CG.

La nula presencia del alelo G en los cerdos San Pedreño impide realizar un proceso de cruzamiento selectivo basado en este marcador entre individuos de la misma raza, por esta razón, es necesario realizar cruzamientos con la raza Casco de Mula o Zungo si se desea introducir este marcador dentro de la población, y de acuerdo a los datos obtenidos por Gerbens *et al.* (1999) poder aumentar el peso corporal de los animales.

2.3.3.3 Frecuencias genotípicas y alélicas para el marcador LEPRH1. En la raza SP el alelo T altamente fijado con un 95% y con ausencia total del genotipo CC; el genotipo TT es superior en la raza Z con un 90.9% y con una frecuencia alélica para T de 93.2% con tan solo 4.5% de heterocigosidad. En la raza Casco de Mula el alelo T alcanza a estar en el 69% de la población analizada, además se obtuvo una heterocigosidad del 42.9%.

La fijación del alelo T en las razas criollas es similar al obtenido en los cerdos Ibéricos (Padilla *et al.*, 2010). Sun *et al.* (2009) encontró que los cerdos con el alelo C tenían un mayor número de lechones nacidos totales y un mayor número de lechones nacidos vivos en la primera camada, por lo tanto, los cerdos criollos no podrían ser empleados para mejorar estas variables en cerdos comerciales.

2.3.3.4 Frecuencias genotípicas y alélicas para los marcadores LEPRH2-H3. Debido a que los dos SNP están a una base de distancia se analizan juntos como

sustitución de un dinucleótido. Utilizando los datos de LEPRH2 y LEPRH3 se estimaron los posibles genotipos (Tabla 31).

Tabla 31. Genotipos para la sustitución del dinucleótido LEPRH2 y LEPRH3.

Marcador	N	Genotipos					
		AC-AT	AC-TC	AT-AT	AT-TC	TC-TC	TC-TT
LEPR (H2-H3)							
Casco de Mula	21	4	1	1	11	4	0
San Pedroño	20	0	0	0	0	19	1
Zungo	22	0	0	0	2	20	0

Se estimaron las frecuencias alélicas y las frecuencias genotípicas y se determinó que el alelo TC se encontraba en el 95.5 y 97.5% en las razas Zungo y San Pedroño, el resto de porcentajes corresponden al alelo AT en Zungos y al TT en San Pedroño; la raza Casco de Mula posee el alelo TC en un 47.6% y el alelo AT en 40.5% y tan solo un 11.9% para el AC (Tabla 32).

De acuerdo a los hallazgos de Padilla *et al.* (2010), se podría incrementar el la frecuencia del alelo T en LEPRH2 con cruces selectivos para disminuir el porcentaje de grasa dorsal de los individuos de esta raza.

Tabla 32. Frecuencia alélica y genotípica del dinucleótido LEPRH2 y LEPRH3.

Marcador	Frecuencia Genotipos						Frecuencia Alélica			
	AC-AT	AC-TC	AT-AT	AT-TC	TC-TC	TC-TT	AC	AT	TT	TC
LEPR (H2-H3)										
Casco de Mula	0.190	0.048	0.048	0.524	0.190	0.000	0.119	0.405	0.000	0.476
San Pedroño	0.000	0.000	0.000	0.091	0.909	0.000	0.000	0.000	0.025	0.975
Zungo	0.000	0.000	0.000	0.000	0.950	0.050	0.000	0.045	0.000	0.955

2.3.3.5 Frecuencias genotípicas y alélicas para el marcador MC4R. El alelo G relacionado con bajo crecimiento de los cerdos se encuentra en más del 90% en las razas San Pedroño y Zungo, con baja heterocigosidad AG 20 y 18.2% respectivamente y con nula presencia del genotipo AA; no obstante, el alelo A en la raza Casco de Mula está en un 66.7%, con un heterocigosidad AG de 57.1%.

El alelo G se encuentra fijado en el jabalí europeo y en una proporción alta en la raza Ibérico (Padilla *et al.*, 2010). Dada la baja presencia del alelo A se podría promover un mejoramiento genético de las razas San Pedreño y Zungo con el fin de mejorar crecimiento de los animales y el consumo de alimento de acuerdo a los resultados obtenidos por Kim *et al.* (2000).

2.3.3.6 Frecuencias genotípicas y alélicas para el marcador PRKAG3. En las tres razas analizadas el alelo G está fijado completamente y por este motivo la Subunidad γ_3 de la Proteína Quinasa Activada por AMP de todo los individuos poseen el aminoácido Val en la posición 199, este ha sido asociado con baja calidad de la carne (Ciobanu *et al.*, 2001).

Weisz *et al.* (2010) encontró que los cerdos de la raza Czech Large White tiene fijado el alelo A en un 83% y Otto *et al.* (2007) encontró en 776 animales de razas comerciales alemanas el alelo A fijado en el 32%, siendo la muestra 776 animales de razas comerciales alemanas. Las poblaciones criollas carecen del alelo G por este motivo no podrían ser empleados con fuente de diversidad genética para el mejoramiento de las razas comerciales.

2.3.3.7 Frecuencias genotípicas y alélicas para el marcador RYR1. El alelo T se encuentra en un 71.4% para la raza Casco de Mula, con una heterocigosidad CT del 28%, se encontró que el 57.1% era susceptible al síndrome de estrés porcino, en la raza San Pedreño la distribución de los dos alelos en la población es parejo, con alto porcentaje de heterocigosidad 55%; en la raza Zungo el alelo T está presente en un 81% con baja heterocigosidad 9.5%.

Los resultados de la minisequenciación de este SNP difieren bastante de los observados mediante PCR-RFLP para las tres razas, encontrando el genotipo CC fijado completamente en los 100 Zungos que analizaron (Hernandez *et al.*, 2008),

por lo que necesario realizar un análisis amplio para estimar la correcta distribución del SNP para RYR1 responsable del síndrome de estrés porcino.

CONCLUSIONES

La raza Zungo presentó la mejor respuesta para las variables peso al sacrificio, peso de canal, peso de carne, largo de canal y perímetro de pierna, seguida por la raza San Pedreño y por último la raza Casco de Mula. Adicionalmente, el esfuerzo de corte de la carne de la raza Zungo fue el menor de las tres, quedando clasificada como carne muy suave, mientras las otras dos razas criollas colombianas se encuentran clasificadas como de carne suave.

El rendimiento de carne para las tres razas fue muy bajo en comparación a las razas comerciales, siendo mayor para el San Pedreño que en el Zungo, por lo que se evidencia una población de cerdos con alto contenido de grasa.

La raza Casco de Mula presento menor espesor de grasa dorsal, sin embargo, los valores para las demás variables fueron inferiores que las demás razas. Las tres razas presentaron valores similares para las variables capacidad de retención de agua, rendimiento de canal caliente, porcentaje de proteína, grasa y ceniza.

La metodología de miniselección estandarizada en este trabajo permite identificar rápidamente siete SNP asociados a calidad de carne y canal en cerdos, por lo que podría ser una herramienta para selección asistida en razas comerciales.

El comportamiento de los cerdos criollos, caracterizados por bajo peso al sacrificio, menor rendimiento en canal y carne, le restan competitividad frente a las razas genéticamente mejoradas; sin embargo, su adaptabilidad a las condiciones Ambientales (Clima, consanguinidad y nutrición deficiente) las convierten en las razas de mayor uso para los pequeños productores de economía campesina; adicionalmente, este estudio, identificó en las razas de cerdos criollos evaluadas, alelos asociados a características de calidad de la carne (LEPRH1, CAST, HFABP

y RYR1). Por lo anterior, es importante, adelantar trabajos de mejora genética que permitan fijar estas características deseables, para seleccionar individuos con parámetros productivos competitivos, sin perder el grado de adaptación que han adquirido, evitando de paso, el cruzamiento con razas mejoradas de mayor susceptibilidad a las condiciones ambientales locales.

RECOMENDACIONES

Para realizar una comparación de la calidad de la carne de los cerdos criollos es necesario agrupar los animales en un mismo lugar bajo una dieta controlada, adicionalmente se podrían incluir animales de razas comerciales para dar mayor valor a los análisis.

Para evidenciar relaciones entre los genes reportados en la literatura y las características de calidad de carne en los cerdos criollos es necesario aumentar la cantidad de animales analizados y controlar variables externas que pueden alterar los resultados como condiciones ambientales y de alimentación.

Para diseñar un plan de mejoramiento genético de las razas porcinas criollas se podría analizar la distribución de los marcadores en toda la población de banco de germoplasma de CORPOICA.

ANEXOS

Anexo 1. Listado de identificación de los cerdos.

Se anexa el listado de animales para cada raza y con la identificación asignada en la investigación. Los animales se sacrificaron a la edad de 10 meses.

ID	Raza	Sexo	ID	Raza	Sexo	ID	Raza	Sexo
1	SP	Macho	782	CM	Macho	1826	Z	Macho
A	SP	Macho	783	CM	Macho	1827	Z	Macho
3	SP	Hembra	784	CM	Macho	1828	Z	Hembra
4	SP	Macho	785	CM	Macho	1829	Z	Hembra
5	SP	Hembra	786	CM	Macho	1830	Z	Hembra
E	SP	Hembra	787	CM	Macho	1831	Z	Hembra
7	SP	Macho	788	CM	Macho	1833	Z	Hembra
8	SP	Macho	789	CM	Macho	1834	Z	Macho
9	SP	Hembra	790	CM	Macho	1835	Z	Macho
10	SP	Hembra	916	CM	Macho	1836	Z	Macho
11	SP	Macho	919	CM	Macho	1838	Z	Macho
C	SP	Macho	935	CM	Macho	1839	Z	Macho
13	SP	Macho	937	CM	Macho	1840	Z	Macho
14	SP	Macho	1129	CM	Macho	1841	Z	Macho
B	SP	Hembra	1139	CM	Macho	1842	Z	Macho
16	SP	Hembra	1141	CM	Macho	1843	Z	Macho
D	SP	Hembra	1145	CM	Macho	1844	Z	Macho
18	SP	Macho	1151	CM	Macho	1851	Z	Hembra
19	SP	Macho	1153	CM	Macho	1852	Z	Hembra
20	SP	Hembra	1157	CM	Macho	1853	Z	Hembra
			1159	CM	Macho	1854	Z	Macho
						1855	Z	Macho

Anexo 2. ANOVA para el peso de Sacrificio en las tres razas.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: Wsacrif					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	4672.27922	2336.13961	20.03	<.0001
Error	60	6998.81506	116.64692		
Total correcto	62	11671.09429			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Wsacrif Media	
	0.400329	14.30957	10.80032	75.47619	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
raza	2	4672.279221	2336.139610	20.03	<.0001

Prueba del rango múltiple de Duncan para Peso de Sacrificio con relación a la variable raza.

Procedimiento GLM	
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Wsacrif	
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGMQ.	
Alfa	0.05
Error de grados de libertad	60
Error de cuadrado medio	116.6469
Valor crítico del rango estudentizado	3.39867
Diferencia significativa mínima	8.0161
Media armónica de tamaño de celdas	20.96823
NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.	
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.	
Tukey Agrupamiento	Media N raza
A	87.227 22 Z
B	69.500 20 SP
B	68.857 21 CM

Anexo 3. ANOVA para el peso y rendimiento de canal en las tres razas.

Peso de la canal

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: WCANAL					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	5118.509931	2559.254965	36.62	<.0001
Error	58	4053.290069	69.884312		
Total correcto	60	9171.800000			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	WCANAL Media	
	0.558070	13.16486	8.359684	63.50000	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	5118.509931	2559.254965	36.62	<.0001

Rendimiento de la canal

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: RCANAL					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	453.955021	226.977511	3.20	0.0481
Error	58	4115.281874	70.953136		
Total correcto	60	4569.236895			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	RCANAL Media	
	0.099350	9.983998	8.423368	84.36869	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	453.955021	226.9775106	3.20	0.0481

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para el peso de canal y rendimiento en canal con relación a la variable raza.

peso Canal cerdo criollos				159
Procedimiento GLM				
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para WCANAL				
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.				
Alfa				0.05
Error de grados de libertad				58
Error de cuadrado medio				69.88431
Valor crítico del rango estudentizado				3.40163
Diferencia significativa mínima				6.3179
Media armónica de tamaño de celdas				20.25848
NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.				
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.				
Tukey Agrupamiento	Media	N	raza	
A	75.332	22	Z	
B	59.535	20	SP	
B				
B	53.974	19	CM	

Procedimiento GLM			
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Rcanal			
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.			
Alfa			0.05
Error de grados de libertad			58
Error de cuadrado medio			70.95314
Valor crítico del rango estudentizado			3.40163
Diferencia significativa mínima			6.366
Media armónica de tamaño de celdas			20.25848
NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.			
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Tukey Agrupamiento	Media	N	raza
A	86.400	22	Z
A			
A	85.980	20	SP
A			
A	80.321	19	CM

Anexo 4. ANOVA para peso y rendimiento en carne en las tres razas.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: Wcarne					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	299.3568636	149.6784318	15.25	<.0001
Error	53	520.1652792	9.8144392		
Total correcto	55	819.5221429			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Wcarne Media	
	0.365282	14.48216	3.132801	21.63214	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
raza	2	299.3568636	149.6784318	15.25	<.0001
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
raza	2	299.3568636	149.6784318	15.25	<.0001

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: Rcarne					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	174.556185	87.278092	4.16	0.0209
Error	53	1110.679558	20.956218		
Total correcto	55	1285.235743			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Rcarne Media	
	0.135816	13.32969	4.577796	34.34286	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
raza	2	174.5561846	87.2780923	4.16	0.0209
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
raza	2	174.5561846	87.2780923	4.16	0.0209

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la carne aprovechable y rendimiento de carne con relación a la variable raza.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: Rcarne					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	174.556185	87.278092	4.16	0.0209
Error	53	1110.679558	20.956218		
Total correcto	55	1285.235743			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Rcarne Media	
	0.135816	13.32969	4.577796	34.34286	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
raza	2	174.5561846	87.2780923	4.16	0.0209
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
raza	2	174.5561846	87.2780923	4.16	0.0209

Procedimiento GLM	
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Rcarne	
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGMQ.	
Alfa	0.05
Error de grados de libertad	53
Error de cuadrado medio	20.95622
Valor crítico del rango estudentizado	3.41005
Diferencia significativa mínima	3.6818
Media armónica de tamaño de celdas	17.97665
NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.	
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.	
Tukey Agrupamiento	Media N raza
A	35.919 20 SP
A	35.529 14 CM
B	32.156 22 Z

Anexo 5. ANOVA para el largo de la canal en las tres razas.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: LC					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	7472.00187	3736.00093	83.27	<.0001
Error	60	2692.04893	44.86748		
Total correcto	62	10164.05079			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	LC Media	
	0.735140	7.888035	6.698319	84.91746	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	7472.001865	3736.000933	83.27	<.0001
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	7472.001865	3736.000933	83.27	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para largo de la canal con relación a la variable raza.

Procedimiento GLM			
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para LCanal			
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.			
Alfa			0.05
Error de grados de libertad			60
Error de cuadrado medio			44.86748
Valor crítico del rango estudentizado			3.39867
Diferencia significativa mínima			4.9716
Media armónica de tamaño de celdas			20.96823
NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.			
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Tukey Agrupamiento	Media	N	raza
A	96.500	22	Z
B	87.375	20	SP
C	70.443	21	CM

Anexo 6. ANOVA para el espesor de grasa dorsal en las tres razas.

Análisis para EGD1.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: EGD1					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	111.4708716	55.7354358	46.64	<.0001
Error	60	71.6980173	1.1949670		
Total correcto	62	183.1688889			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	EGD1 Media	
	0.608569	29.36809	1.093145	3.722222	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	111.4708716	55.7354358	46.64	<.0001

Análisis para EGD2.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: EGD2					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	203.8269192	101.9134596	164.84	<.0001
Error	60	37.0953030	0.6182551		
Total correcto	62	240.9222222			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	EGD2 Media	
	0.846028	27.21780	0.786292	2.888889	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	203.8269192	101.9134596	164.84	<.0001

Análisis para EGD3.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: EDG3					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	235.6520815	117.8260408	227.87	<.0001
Error	60	31.0244264	0.5170738		
Total correcto	62	266.6765079			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	EDG3 Media	
	0.883663	25.07025	0.719078	2.868254	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	235.6520815	117.8260408	227.87	<.0001

Pruebas del rango estudentizado de Tukey (HSD) para los espesores de grasa dorsal con relación a la variable raza.

Procedimiento GLM			
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para EGD1			
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.			
Alfa			0.05
Error de grados de libertad			60
Error de cuadrado medio			1.194967
Valor crítico del rango estudentizado			3.39867
Diferencia significativa mínima			0.8113
Media armónica de tamaño de celdas			20.96823
NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.			
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Tukey Agrupamiento	Media	N	raza
A	4.8273	22	Z
A	4.4700	20	SP
B	1.8524	21	CM

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para EGD2

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	60
Error de cuadrado medio	0.618255
Valor crítico del rango estudentizado	3.39867
Diferencia significativa mínima	0.5836
Media armónica de tamaño de celdas	20.96823

NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	raza
A	4.4227	22	Z
A	3.8500	20	SP
B	0.3667	21	CM

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para EGD3

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	60
Error de cuadrado medio	0.517074
Valor crítico del rango estudentizado	3.39867
Diferencia significativa mínima	0.5337
Media armónica de tamaño de celdas	20.96823

NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	raza
A	4.7545	22	Z
B	3.5750	20	SP
C	0.2190	21	CM

Anexo 7. ANOVA para el perímetro de pierna en las tres razas.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: PP					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	4036.678447	2018.339224	54.59	<.0001
Error	60	2218.430442	36.973841		
Total correcto	62	6255.108889			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	PP Media	
	0.645341	12.26479	6.080612	49.57778	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	4036.678447	2018.339224	54.59	<.0001

Pruebas del rango estudentizado de Tukey (HSD) para el perímetro de pierna con relación a la variable raza.

Procedimiento GLM			
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para PP			
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGMQ.			
Alfa			0.05
Error de grados de libertad			60
Error de cuadrado medio			36.97384
Valor crítico del rango estudentizado			3.39867
Diferencia significativa mínima			4.5131
Media armónica de tamaño de celdas			20.96823
NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.			
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Tukey Agrupamiento	Media	N	raza
A	60.282	22	Z
B	45.880	20	SP
B	41.886	21	CM

Anexo 8. ANOVA para la terneza por WB en las tres razas.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: WB					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	39.4566771	19.7283385	9.14	0.0003
Error	60	129.5576858	2.1592948		
Total correcto	62	169.0143629			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	WB Media	
	0.233452	31.95005	1.469454	4.599222	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	39.45667708	19.72833854	9.14	0.0003

Pruebas del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la Terneza por WB con relación a la variable raza.

Procedimiento GLM			
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para WB			
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.			
Alfa			0.05
Error de grados de libertad			60
Error de cuadrado medio			2.159295
Valor crítico del rango estudentizado			3.39867
Diferencia significativa mínima			1.0906
Media armónica de tamaño de celdas			20.96823
NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.			
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Tukey Agrupamiento	Media	N	RAZA
A	5.6547	20	SP
B	4.5157	21	CM
B	3.7194	22	Z

Anexo 9. ANOVA para el análisis proximal en las tres razas.

Humedad.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: HUME					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	380.386582	190.193291	14.93	<.0001
Error	60	764.123260	12.735388		
Total correcto	62	1144.509841			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	HUME Media	
	0.332358	5.466097	3.568667	65.28730	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	380.3865815	190.1932908	14.93	<.0001

Grasa.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: GRASA					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	18.328881	9.164440	0.32	0.7289
Error	57	1642.507619	28.815923		
Total correcto	59	1660.836500			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	GRASA Media	
	0.011036	26.14096	5.368046	20.53500	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	18.32888095	9.16444048	0.32	0.7289
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	18.32888095	9.16444048	0.32	0.7289

Proteína.

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: GRASA					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	18.328881	9.164440	0.32	0.7289
Error	57	1642.507619	28.815923		
Total correcto	59	1660.836500			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	GRASA Media	
	0.011036	26.14096	5.368046	20.53500	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	18.32888095	9.16444048	0.32	0.7289
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	18.32888095	9.16444048	0.32	0.7289

Ceniza

Procedimiento GLM					
Variable dependiente: CEN					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	1.84032612	0.92016306	1.16	0.3209
Error	60	47.66570563	0.79442843		
Total correcto	62	49.50603175			
	R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	CEN Media	
	0.037174	25.40830	0.891307	3.507937	
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	1.84032612	0.92016306	1.16	0.3209
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
RAZA	2	1.84032612	0.92016306	1.16	0.3209

Pruebas del rango estudentizado de Tukey (HSD) para la Humedad con relación a la variable raza.

Procedimiento GLM			
Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para HUM			
NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.			
Alfa			0.05
Error de grados de libertad			60
Error de cuadrado medio			12.73539
Valor crítico del rango estudentizado			3.39867
Diferencia significativa mínima			2.6487
Media armónica de tamaño de celdas			20.96823
NOTA: Los tamaños de las celdas no son iguales.			
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Tukey Agrupamiento	Media	N	RAZA
A	67.960	20	SP
A	66.086	21	CM
B	62.095	22	Z

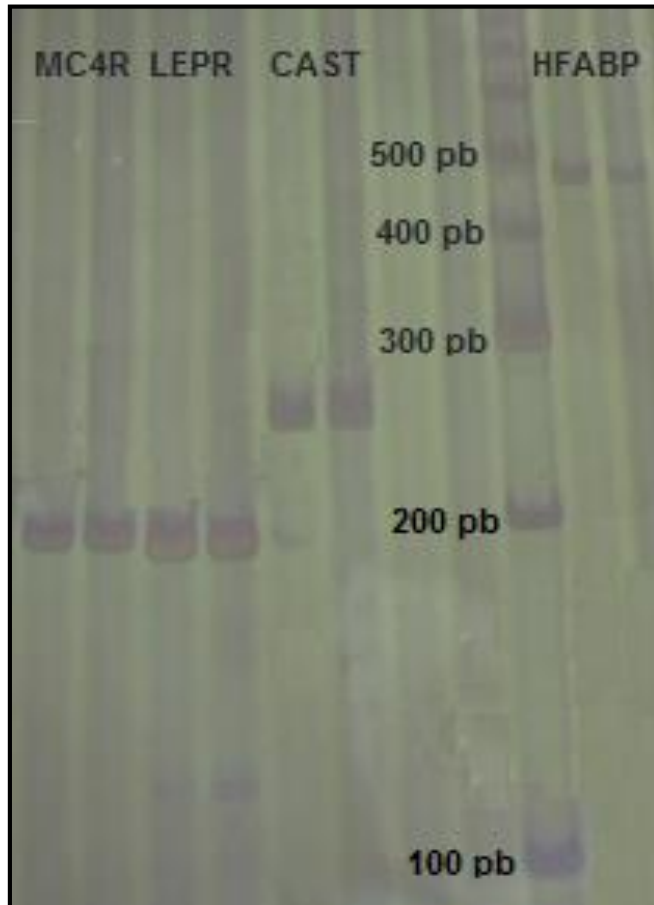
Anexo 10. Concentraciones de ADN obtenidas.

Las siglas (CM) corresponden a Casco de Mula, (Z) a la raza Zungo y (SP) a la raza San Pedreño, el ADN esta medido en ng/ μ l.

ID	Raza	ADN	Ratio	ID	Raza	ADN	Ratio	ID	Raza	ADN	Ratio
1	SP	1112.2	2.00	782	CM	598.3	1.93	1826	Z	278.3	1.87
A	SP	589.7	2.03	783	CM	753.8	1.99	1827	Z	313.5	1.85
3	SP	1141.6	2.01	784	CM	526.3	1.98	1828	Z	269.3	1.85
4	SP	738.0	2.02	785	CM	304.7	2.00	1829	Z	460.8	2.04
5	SP	227.4	1.85	786	CM	598.7	1.92	1830	Z	314.5	1.94
B	SP	1070.3	2.04	787	CM	1026.5	2.00	1831	Z	554.2	2.07
7	SP	1010.3	2.08	788	CM	284.1	2.15	1833	Z	131.6	1.86
8	SP	800.1	2.02	789	CM	831.2	1.92	1834	Z	227.4	1.93
9	SP	886.4	1.95	790	CM	609.1	1.98	1835	Z	216.6	1.84
10	SP	973.6	2.12	916	CM	452.4	1.99	1836	Z	211.5	1.80
11	SP	135.8	1.88	919	CM	850.3	1.80	1838	Z	369.9	1.67
C	SP	998.1	2.03	935	CM	681.3	1.97	1839	Z	282.3	1.96
13	SP	427.4	1.95	937	CM	449.0	1.81	1840	Z	338.2	2.05
14	SP	1179.1	2.01	1129	CM	785.1	1.89	1841	Z	555.9	1.89
D	SP	1368.4	1.95	1139	CM	882.4	2.16	1842	Z	436.3	1.84
16	SP	1204.0	1.99	1141	CM	684.1	2.05	1843	Z	292.7	1.97
E	SP	421.5	1.84	1145	CM	601.6	1.95	1844	Z	156.9	2.09
18	SP	1155.0	2.09	1151	CM	497.5	1.98	1851	Z	283.4	2.09
19	SP	866.7	2.04	1153	CM	597.7	1.86	1852	Z	305.1	1.59
20	SP	961.6	2.10	1157	CM	445.4	1.93	1853	Z	189.5	1.70
				1159	CM	283.9	2.16	1854	Z	335.7	1.83
								1855	Z	246.5	1.87

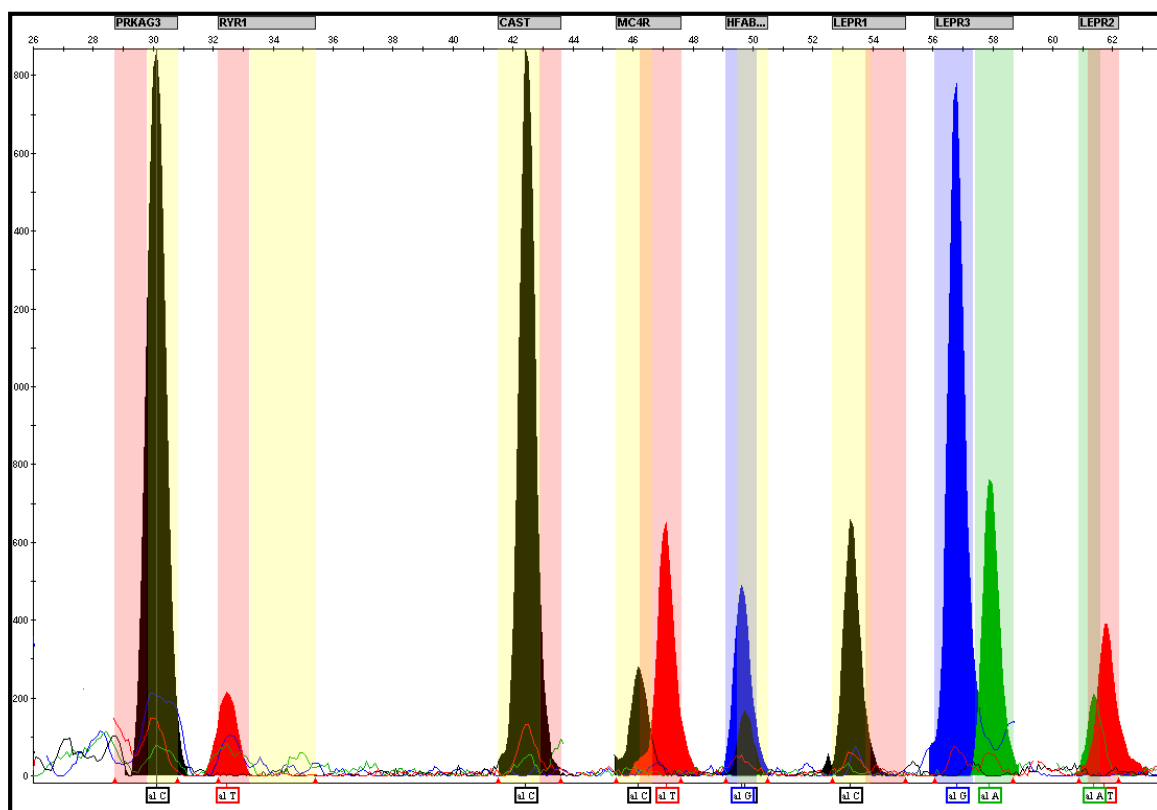
Anexo 11. Resultado amplificación con PCR.

Se evidencia que el peso de los fragmentos amplificados corresponde con los tamaños determinados inicialmente. En la imagen se demuestra la amplificación de los fragmentos para CAST, MC4R, LEPR y HFABP en la primera fotografía y en la segunda se muestran los productos amplificados para los genes PRKAG3 y RYR1.



Anexo 12. Resultado de la estandarización de la minisequenciación.

Resultado de SNaPShot del individuo 1129 de la raza CM, utilizado para la estandarización de la metodología.



El genotipo para este individuo es dado por los picos de fluorescencia, los marcadores PRKAG3, CAST, MC4R y LEPRH3 están representados por nucleótido de la cadena complementaria (*Minus*).

Muestra	Raza	PRKAG3	RYR1	CAST	MC4R	HFABP	LEPRH1	LEPRH3	LEPRH2
1129	CM	CC	TT	CC	CT	CG	CC	AG	AT

Anexo 13. Genotipos para las tres razas porcinas criollas colombianas.

Raza San Pedroño

Muestra	Raza	PRKAG3	RYR1	CAST	MC4R	HFABP	LEPRH1	LEPRH3	LEPRH2
1	SP	GG	CC	GG	GG	CG	TT	CC	TT
A	SP	GG	CC	GG	GG	CG	TT	CC	TT
3	SP	GG	CT	AA	GG	CC	TT	CC	TT
4	SP	GG	CT	AG	AG	CG	CT	CT	TT
5	SP	GG	TT	AG	GG	CC	TT	CC	TT
E	SP	GG	TT	AG	AG	CG	TT	CC	TT
7	SP	GG	CT	GG	GG	CG	TT	CC	TT
8	SP	GG	TT	GG	AG	CC	TT	CC	TT
9	SP	GG	CT	GG	GG	CG	TT	CC	TT
10	SP	GG	CT	AG	GG	CC	TT	CC	TT
11	SP	GG	TT	GG	GG	CC	TT	CC	TT
C	SP	GG	CT	AG	GG	CC	TT	CC	TT
13	SP	GG	CC	GG	AG	CC	TT	CC	TT
14	SP	GG	CT	GG	GG	CG	TT	CC	TT
B	SP	GG	CT	AG	GG	CC	CT	CC	TT
16	SP	GG	CT	AA	GG	CC	TT	CC	TT
D	SP	GG	CT	AG	GG	CG	TT	CC	TT
18	SP	GG	CT	AG	GG	CC	TT	CC	TT
19	SP	GG	CC	AA	GG	CC	TT	CC	TT
20	SP	GG	CC	AG	GG	CC	TT	CC	TT

Raza Casco de Mula

Muestra	Raza	PRKAG3	RYR1	CAST	MC4R	HFABP	LEPRH1	LEPRH3	LEPRH2
782	CM	GG	TT	AA	AG	GG	TT	CC	TT
783	CM	GG	CC	GG	AG	GG	TT	CT	AT
784	CM	GG	TT	GG	AA	CG	CC	TT	AA
785	CM	GG	CC	AG	AA	CG	TT	CT	AT
786	CM	GG	CT	GG	AA	CG	CT	CT	AA
787	CM	GG	TT	GG	AG	GG	CT	CT	AA
788	CM	GG	CT	GG	AA	CG	TT	CC	TT
789	CM	GG	TT	AA	AG	CG	CT	CT	AT
790	CM	GG	TT	AA	AG	CG	TT	CT	AT
916	CM	GG	CT	AG	AG	CG	CT	CT	AT
919	CM	GG	TT	GG	AG	CG	CT	CT	AA
935	CM	GG	TT	GG	AG	GG	TT	CC	AT
937	CM	GG	TT	GG	AA	GG	CT	CT	AT
1129	CM	GG	TT	GG	AG	CG	CC	CT	AT
1139	CM	GG	TT	AG	AG	CG	CT	CT	AA
1141	CM	GG	CC	GG	AG	CG	TT	CC	TT
1145	CM	GG	TT	AG	AA	CG	TT	CT	AT
1151	CM	GG	CT	GG	AA	CC	CT	CT	AT
1153	CM	GG	TT	AA	GG	CG	TT	CC	TT
1157	CM	GG	CT	GG	AA	CG	CT	CT	AT
1159	CM	GG	CT	GG	AG	GG	TT	CT	AT

Raza Zungo

Muestra	Raza	PRKAG3	RYR1	CAST	MC4R	HFABP	LEPRH1	LEPRH3	LEPRH2
1826	Z	GG	TT	AA	GG	CG	TT	CC	TT
1827	Z	GG	TT	AA	GG	CC	TT	CC	TT
1828	Z	GG	TT	AA	GG	GG	TT	CC	TT
1829	Z	GG	CT	AA	GG	CG	TT	CC	TT
1830	Z	GG	TT	AA	GG	CC	TT	CC	TT
1831	Z	GG	TT	AG	GG	CC	TT	CC	TT
1833	Z	GG	TT	AA	GG	CG	TT	CC	TT
1834	Z	GG	TT	AG	AG	.	TT	CC	TT
1835	Z	GG	TT	AA	GG	CG	TT	CC	TT
1836	Z	GG	CC	AG	AG	.	TT	CC	TT
1838	Z	GG	TT	AG	GG	GG	TT	CC	TT
1839	Z	GG	TT	AA	GG	GG	TT	CC	TT
1840	Z	GG	TT	AA	GG	CG	TT	CC	TT
1841	Z	GG	TT	AA	GG	CC	TT	CC	TT
1842	Z	GG	TT	GG	GG	GG	CT	CT	AT
1843	Z	GG	TT	AG	GG	GG	TT	CC	TT
1844	Z	GG	TT	AG	AG	CG	TT	CC	TT
1851	Z	GG	TT	GG	GG	CC	TT	CC	TT
1852	Z	GG	CT	AG	GG	.	TT	CC	TT
1853	Z	GG	.	AG	GG	.	TT	CC	TT
1854	Z	GG	CC	AG	GG	GG	TT	CC	TT
1855	Z	GG	CC	AG	AG	CG	CC	CT	AT

BIBLIOGRAFÍA

Abuabara, Y. (2012) San Pedroño [Fotografía]. Archivo Banco de Germoplasma de CORPOICA C.I. la Turipaná

Aitken, N., Smith, S., Schwarz, C., & Morin, P. A. (2004). Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery in mammals: a targeted-gene approach. *Molecular ecology*, 13(6), 1423-1431.

Alonso, V., Campo, M.M., Provincial, L., Roncalés, P., & Beltrán, J.B. (2010). Effect of protein level in commercial diets on pork meat quality. *Meat Science*, 85, 7–14.

Andersson, L. (2001). Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nature Reviews Genetics*, 2(2), 130-138.

Asoporcinos (2015). Informe económico del sector porcicultor: Diciembre de 2015, *Boletín Económico del Sector Porcicultor ASOPORCINOS*, Vol 12, 2.

Albarracín Balaguera, M. A. (2014). La conservación del cerdo criollo congo santandereano (sus scrofa domestica), recurso alimentario de sistemas tradicionales de producción campesina en Santander alternativas planteadas con actores locales, regionales y nacionales.

Barbut, S., Sosnicki, A. A., Lonergan, S. M., Knapp, T., Ciobanu, D. C., Gatcliffe, L. J., ... & Wilson, E. W. (2008). Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Science*, 79(1), 46-63.

Barlocco, N., Vadell, A., & Gil, M. J. (2000). Comportamiento productivo en el engorde y características de canal de cerdas Pampa e híbridas Duroc x Large White. *Agrociencia*, 4(1), 70-75.

Barone, V., Bertocchini, F., Bottinelli, R., Protasi, F., Allen, P. D., Franzini Armstrong, C., & Sorrentino, V. (1998). Contractile impairment and structural alterations of skeletal muscles from knockout mice lacking type 1 and type 3 ryanodine receptors. *FEBS letters*, 422(2), 160-164.

Barrera, G., Martínez, R., Ortegón, Y., Ortíz, Á., Moreno, F., Velásquez, H., ... & Abuabara, Y. (2007). Cerdos Criollos Colombianos: Caracterización racial, productiva y genética. Bogotá D.C. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA.

- Barsh, G., & Schwartz, M. (2002). Genetic approaches to studying energy balance: perception and integration. *Nature Reviews Genetics*, 3(8), 589-600.
- Bickerstaffe, R., Bekhit, A., Robertson, L., Roberts, N., & Geesink, G. (2001). Impact of introducing specifications on the tenderness of retail meat. *Meat science*, 59(3), 303-315.
- Bjerre, D., Mark, T., Sørensen, P., Proschowsky, H., Vernerisen, A., Jørgensen, C., & Fredholm, M. (2010). Investigation of candidate regions influencing litter size in Danish Landrace sows. *Journal of animal science*, 88(5), 1603-1609.
- Bonelli, A., & Schifferli, C. (2001). Síndrome Estrés Porcino. *Archivos de medicina veterinaria*, 33(2), 125-135.
- Buchanan, D., Stalder, K., Rothschild, M., & Ruvinsky, A. (2011). Breeds of pigs. *The Genetics of the Pig*, 445.
- Carolino, I., Vicente, A., Sousa, C., & Gama, L. (2007). SNaPshot based genotyping of the RYR1 mutation in Portuguese breeds of pigs. *Livestock Science*, 111(3), 264-269.
- Cardozo, A. F., & Rodríguez, L. E. (2010). Potencial y necesidades de investigación sobre el cerdo criollo en los llanos de Colombia y Venezuela. *Revista Computadorizada de Producción Porcina Volumen*, 17(2).
- Castro, S., Ariza, M., Ríos, M., Moreno, D., & Guerrero, G. (2011). Detección del Polimorfismo 1843 en el Gen Receptor de Ryanodina Mediante la Técnica de PCR-SSCP. *Orinoquía*, 15(2), 192-200.
- Chalupová, P., Sedláčková, T., Kaplanová, K., Weisz, F., Bryndová, M., Vykoukalová, Z., ... & Knoll, A. (2012). Association of 15 candidate genes with meat quality traits in Czech Large White pigs. *African Journal of Agricultural Research*, 7(25), 3719-3728.
- Chou, J., Impens, F., Gevaert, K., Davies, P. (2011). m-Calpain activation in vitro does not require autolysis or subunit dissociation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 7(1814), 864-872
- Ciobanu, D., Bastiaansen, J., Malek, M., Helm, J., Woollard, J., Plastow, G., & Rothschild, M. (2001). Evidence for new alleles in the protein kinase adenosine monophosphate-activated γ 3-subunit gene

associated with low glycogen content in pig skeletal muscle and improved meat quality. *Genetics*, 159(3), 1151-1162.

Ciobanu, D., Bastiaansen, J., Lonergan, S., Thomsen, H., Dekkers, J., Plastow, G., & Rothschild, M. (2004). New alleles in calpastatin gene are associated with meat quality traits in pigs. *Journal of animal science*, 82(10), 2829-2839.

Ciobanu, D. C., Lonergan, S. M., Huff-Lonergan, E. J., Rothschild, M. F., & Ruvinsky, A. (2011). Genetics of meat quality and carcass traits. *The Genetics of the Pig*, 355-89.

Civáňová, K., & Knoll, A. (2007). SNaPshot minisequencing and a panel of candidate genes for complex routine testing of meat performance traits in pigs. *Animal Biotechnology*, 18(2), 109-115.

Coma, J., & Piquer, J. (2000). Calidad de carne en porcino: efecto de la nutrición. *Producción Animal*, 15(154), 60-95.

Contreras, F., & Guaracao, R. (2010). Caracterización del sistema de producción tradicional del cerdo criollo congo santandereano en el municipio de Suratál. Bucaramanga: Investigación dirigida, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad MVZ.

Cottin, P., Thompson, V., Sathe, S., Szpacenko, A., & Goll, D. (2001). Autolysis of μ - and m-Calpain from Bovine Skeletal Muscle. *Biological chemistry*, 382(5), 767-776.

Crawford, S., Moeller, S., Zerby, H., Irvin, K., Kuber, P., Velleman, S., & Leeds, T. (2010). Effects of cooked temperature on pork tenderness and relationships among muscle physiology and pork quality traits in loins from Landrace and Berkshire swine. *Meat science*, 84(4), 607-612.

Daszkiewicz, T., Bąk, T., & Denaburski, J. (2005). Quality of pork with a different intramuscular fat (IMF) content. *Polish journal of food and nutrition sciences*, 14(55), 1.

Davoli, R., & Braglia, S. (2007). Molecular approaches in pig breeding to improve meat quality. *Briefings in functional genomics & proteomics*, 6(4), 313-321.

Del Río Moreno, J. L. (1996). El cerdo. Historia de un elemento esencial de la cultura castellana en la conquista y colonización de América (siglo XVI). *Anuario de estudios americanos*, 53(1), 13-35.

FAO (2015). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Perspectivas alimentarias, Resúmenes de Mercedo, Octubre de 2015.

Fisher, P., Mellett, F., & Hoffman, L. (2000). Halothane genotype and pork quality. 1. Carcass and meat quality characteristics of three halothane genotypes. *Meat Science*, 54(2), 97-105.

Fujii, J., Otsu, K., Zorzato, F., de Leon, S., Khanna, V. K., Weiler, J., ... & MacLennan, D. (1991). Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 253(5018), 448-451

Gandolfi, G., Pomponio, L., Erbjerg, P., Karlsson, A., Costa, L., Lametsch, R., ... & Davoli, R. (2011). Investigation on CAST, CAPN1 and CAPN3 porcine gene polymorphisms and expression in relation to post-mortem calpain activity in muscle and meat quality. *Meat Science*, 88(4), 694-700.

Galián, M. (2008). Características de la canal y calidad de la carne, composición mineral y lipídica del cerdo Chato Murciano y su cruce con Ibérico. Efecto del sistema de manejo. Universidad de Murcia. Tesis Doctoral.

Gao, Y., Zhang, R., Hu, X., & Li, N. (2007). Application of genomic technologies to the improvement of meat quality of farm animals. *Meat science*, 77(1), 36-45.

García, G., Clavijo, D., Mejía, O., García, A., Vittorino, M., Casadiego, C., ... & Zamudio, C. (2007). Aspectos biomédicos de la familia de las lipocalinas; Biomedical Aspects of the Lipocalines Family. *Univ. med*, 48(2), 118-128.

Garnier, J., Klont, R., & Plastow, G. (2003). The potential impact of current animal research on the meat industry and consumer attitudes towards meat. *Meat Science*, 63(1), 79-88.

Gerbens, F., Van Erp, A., Harders, F., Verburg, F., Meuwissen, T., Veerkamp, J., & Te Pas, M. (1999). Effect of genetic variants of the heart fatty acid-binding protein gene on intramuscular fat and performance traits in pigs. *Journal of Animal science*, 77(4), 846-852.

Gerbens, F., Pas, M., Everts, M., & Haagsman, H. (2004). Genetic control of intramuscular fat accretion. *Muscle development of livestock animals: physiology, genetics and meat quality*, 343-362.

- Goll, D., Thompson, V., Li, H., Wei, W., & Cong, J. (2003). The calpain system. *Physiological reviews*, 83(3), 731.
- Gongora, J., & Moran, C. (2005). Nuclear and mitochondrial evolutionary analyses of Collared, White-lipped, and Chacoan peccaries (Tayassuidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 34(1), 181-189.
- Góngora, J., Cuddahee, R., Nascimento, F., Palgrave, C., Lowden, S., Ho, S., ... & Larson, G. (2011). Rethinking the evolution of extant sub-Saharan African suids (Suidae, Artiodactyla). *Zoologica Scripta*, 40(4), 327-335.
- Gutiérrez, W., Martínez, R., Escobedo, C., & Anzola, H. (2003). Situación de los recursos zoogenéticos. *Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Bogotá, Colombia*, 134.
- Harrington, C. T., Lin, E. I., Olson, M. T., & Eshleman, J. R. (2013). Fundamentals of pyrosequencing. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 137(9), 1296-1303.
- Hassanin, A., Delsuc, F., Ropiquet, A., Hammer, C., Jansen van Vuuren, B., Matthee, C., ... & Couloux, A. (2012). Pattern and timing of diversification of Cetartiodactyla (Mammalia, Laurasiatheria), as revealed by a comprehensive analysis of mitochondrial genomes. *Comptes rendus biologies*, 335(1), 32-50.
- Hayashi, K. (1991). PCR-SSCP: a simple and sensitive method for detection of mutations in the genomic DNA. *Genome Research*, 1(1), 34-38.
- Hernández, D., Posso, A., & Muñoz, J. (2008). Detection of a single mutation point in Ryanodine receptor gene (Ryr 1) in colombian creole pigs. *Acta Agronómica*, 57(4), 275-278.
- Hernández, J., Visscher, P., Plastow, G., & Haley, C. (2003). Candidate Gene Analysis for Quantitative Traits Using the Transmission Disequilibrium Test: The Example of the Melanocortin 4-Receptor in Pigs. *Genetics*, 164, 637-644.
- Hleap, J. I., & Velasco, V. A. (2010). Análisis de las propiedades de textura durante el almacenamiento de salchichas elaboradas a partir de tilapia roja (*Oreochromis* sp.). *Bioteología en el Sector agropecuario y agroindustrial*, 8(2), 46-56.

Honikel, K. O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science*, 49(4), 447-457.

Huff, E., & Lonergan, S. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71(1), 194-204.

Hurst, C., Zuiverloon, T., Hafner, C., Zwarthoff, E. & Knowles, M. (2009). A SNaPShot assay for the rapid and simple detection of four common hotspot codon mutations in the PIK3CA gene. *BMC research notes*, 2(1), 66.

Jiménez, E., Cordero, M., López, C. & García, I. (2012). Obesidad monogénica humana: papel del sistema leptina-melanocortina en la regulación de la ingesta de alimentos y el peso corporal en humanos. In *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 35(2), 285-293.

Johnson, A. K., McGlone, J. J., Rothschild, M. F., & Ruvinsky, A. (2011). Behaviour genetics of the domestic pig. *The genetics of the pig. Wallingford: CABI*, 200-217.

Jorfi, R., Mustafa, S., Man, Y. B. C., Hashim, D. B. M., Sazili, A. Q., Farjam, A. S., ... & Kashiani, P. (2015). Differentiation of pork from beef, chicken, mutton and chevon according to their primary amino acids content for halal authentication. *African Journal of Biotechnology*, 11(32), 8160-8166.

Jurkat-Rott, K., McCarthy, T., & Lehmann-Horn, F. (2000). Genetics and pathogenesis of malignant hyperthermia. *Muscle & nerve*, 23(1), 4-17.

Kauffman, R. G. (2001). Meat composition. *Handbook of Meat and Meat Processing, Second Edition*, cap 2, 49.

Kent, M., Spencer, M., & Koohmaraie, M. (2004). Postmortem proteolysis is reduced in transgenic mice overexpressing calpastatin. *Journal of animal science*, 82(3), 794-801.

Kim, J. H., Seong, P. N., Cho, S. H., Park, B. Y., Hah, K. H., Yu, L. H., ... & Ahn, C. N. (2008). Characterization of nutritional value for twenty-one pork muscles. *Asian Australasian Journal Of Animal Sciences*, 21(1), 138.

Kim, K., Larsen, N., Short, T., Plastow, G., & Rothschild, M. (2000). A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits. *Mammalian Genome*, 11(2), 131-135.

Kleeman, G., Guerrero, M.F., Gómez, G., Maner, J., Buitrago, J. y Owen, A. 1977. Comparación de rendimientos de razas de cerdos criollos (Zungo) colombianos, Duroc y sus cruces, en zonas tropicales. In: VI Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. La Habana, 2:115-116

Koohmaraie, M., Babiker, A. S., Schroeder, A., Merkel, R., & Dutson, T. (1988). Acceleration of postmortem tenderization in ovine carcasses through activation of Ca²⁺-dependent proteases. *Journal of food science*, 53(6), 1638-1641.

Koohmaraie, M. (1990). Inhibition of postmortem tenderization in ovine carcasses through infusion of zinc. *Journal of animal science*, 68(5), 1476-1483.

Koohmaraie, M., & Geesink, G. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, 74(1), 34-43

Lander, E., & Botstein, D. (1989). Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, 121(1), 185-199.

Lanner, J. T., Georgiou, D. K., Joshi, A. D., & Hamilton, S. L. (2010). Ryanodine Receptors: Structure, Expression, Molecular Details, and Function in Calcium Release. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(11).

Larson, G., Albarella, U., Dobney, K., Rowley-Conwy, P., Schibler, J., Tresset, A., ... & Cooper, A. (2007). Ancient DNA, pig domestication, and the spread of the Neolithic into Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(39), 15276-15281.

Latorre, M. A., Lázaro, R., Valencia, D. G., Medel, P., & Mateos, G. G. (2004). The effects of gender and slaughter weight on the growth performance, carcass traits, and meat quality characteristics of heavy pigs. *Journal of animal science*, 82(2), 526-533.

- Leach, L. M., Ellis, M., Sutton, D. S., McKeith, F. K., & Wilson, E. R. (1996). The growth performance, carcass characteristics, and meat quality of halothane carrier and negative pigs. *Journal of Animal Science*, 74(5), 934-943.
- Leth T (2004) Chemical Analysis For Specific Components: Major Meat Components, *Encyclopedia of Meat Sciences*, 185.
- Li, B., Zerby, H., & Lee, K. (2007). Heart fatty acid binding protein is upregulated during porcine adipocyte development. *Journal of animal science*, 85(7), 1651-1659.
- Linares, V., Linares, L., & Mendoza, G. (2011). Caracterización etnozootécnica y potencial carnicero de *Sus scrofa* "cerdo criollo" en Latinoamérica. *Scientia Agropecuaria*, 2(2), 97-110.
- Liu, Y., Rocha, S., Liu, P., Long, J., Lu, Y., Elze, L., ... & Deng, H. (2004). Tests of linkage and/or association of the LEPR gene polymorphisms with obesity phenotypes in Caucasian nuclear families. *Physiological Genomics*, 17(2), 101-106.
- Liu, Z., & Cordes, J. (2004). DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 238(1), 1-37.
- Lobo, M., & Medina, C. (2009). Conservación de recursos genéticos de la agrobiodiversidad como apoyo al desarrollo de sistemas de producción sostenibles. *Revista Corpoica—Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 10(1), 33-42.
- López, R., Cano, H., Chassin, O., & Zavala, M. (2007). Selección asistida por marcadores genéticos moleculares en especies animales de interés pecuario. *Ciencia Nicolaita*, 46.
- López, C., Fructuoso, G., & Mateos, G. (2000). Sistemas de producción porcina y calidad de la carne. El cerdo ibérico. *Avances en nutrición y alimentación animal: XVI Curso de especialización FEDNA*. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. 77-111.
- Mackowski, M., Szymoniak, K., Szydłowski, M., Kamyczek, M., Eckert, R., Rozycki, M., & Switonski, M. (2005). Missense mutations in exon 4 of the porcine LEPR gene encoding extracellular domain and their association with fatness traits. *Animal Genetics*, 36(2), 135-137.

- Macleod, W., Harnly, J., Chen, J., Chevassus-Agnes, S., Gilani, G., Livesey, G., & Warwick, P. (2003). Food energy—Methods of analysis and conversion factors. *In Food and Agriculture Organization of the United Nations Technical Workshop Report (Vol. 77)*.
- Madeira, M. S., Costa, P., Alfaia, C. M., Lopes, P. A., Bessa, R. J. B., Lemos, J. P. C., & Prates, J. A. M. (2013). The increased intramuscular fat promoted by dietary lysine restriction in lean but not in fatty pig genotypes improves pork sensory attributes. *Journal of animal science*, *91*(7), 3177-3187.
- Marcoux, M., Pomar, C., Faucitano, L., & Brodeur, C. (2007). The relationship between different pork carcass lean yield definitions and the market carcass value. *Meat science*, *75*(1), 94-102.
- Markljung, E., Braunschweig, M., Karlskov-Mortensen, P., Bruun, C., Sawera, M., Cho, I, ... & Andersson, L. (2008). Genome-wide identification of quantitative trait loci in a cross between Hampshire and Landrace II: meat quality traits. *BMC genetics*, *9*(1), 22.
- Martínez, R., Gallego, J., Avila, O., Pérez, J., & Onofre, H. (2005). Estructura y función del banco de germoplasma in vitro en Colombia. *Archivos de zootecnia*, *54*(206), 545-550.
- Massei, G. & Genov, P. (2004). The environmental impact of wild boar. *Galemys: Boletín informativo de la Sociedad Española para la conservación y estudio de los mamíferos*, *16*(1), 135-145.
- McGlone, J., & Pond, W. (2003). Pig Production: Biological principles and applications. Delmar Learning. Inc., Clifton Park, NY. 81-87.
- Medina, R. D. M., Herrera, M. B., Lozano, M. D. L. S. R., & Suárez, E. J. D. (2002). Características de la canal del cerdo Pelón Mexicano, procedente de Mizantla, Veracruz, México Carcass traits of Hairless Mexican pigs from Mizantla, in the state of Veracruz in Mexico. *Vet. Méx*, *33*(1), 27.
- Mejía, C., Montañón, M., Velázquez, P., & Cuarón, J. (1999). Estimación in vivo del rendimiento de las canales porcinas mediante ultrasonografía. *Técnica pecuaria en México*, *37*(2), 31-38.
- Meyers, S., Rodriguez, S., & Beever, J. (2007). Fine-mapping of a QTL influencing pork tenderness on porcine chromosome 2. *BMC Genetics*, *8*(1), 69.
- Meyers, S., & Beever, J. (2008). Investigating the genetic basis of pork tenderness: genomic analysis of porcine CAST. *Animal genetics*, *39*(5), 531-543.

- Milan, D., Jeon, J., Looft, C., Amarger, V., Robic, A., Thelander, M., ... & Andersson, L. (2000). A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Science*, 288(5469), 1248-1251.
- Mona, S., Randi, E., & Tommaseo, M. (2007). Evolutionary history of the genus *Sus* inferred from cytochrome b sequences. *Molecular phylogenetics and evolution*, 45(2), 757-762.
- Mongue, J. (2005). Producción porcina. *Editorial EUNED*, 327.
- Montaldo, H., & Meza, C. (1998). Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. *Electronic Journal of Biotechnology*, 1(2), 15-16.
- Moreno, F. (2012) San Pedreño [Fotografía]. Archivo Banco de Germoplasma de CORPOICA C.I. El Nus.
- Murphy, R. (2010). Calpains, skeletal muscle function and exercise. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 37(3), 385-391.
- Muñoz, G., Alcázar, E., Fernández, A., Barragán, C., Carrasco, A., De Pedro, E., ... & Rodríguez, M. C. (2011). Effects of porcine MC4R and LEPR polymorphisms, gender and Duroc sire line on economic traits in Durocx Iberian crossbred pigs. *Meat science*, 88(1), 169-173.
- National Pork Producers Council Pork Quality Solutions Team. (1998). Pork Quality Targets. In *Pork Facts*. #04366 - 10/98. NPPC. Des Moines, IA.
- Nii, M., Hayashi, T., Mikawa, S., Tani, F., Niki, A., Mori, N., ... & Awata, T. (2005). Quantitative trait loci mapping for meat quality and muscle fiber traits in a Japanese wild boar × Large White intercross. *Journal of animal science*, 83(2), 308-315.
- Nitipongsuwan, S., & Mekchay, S. (2015). Association of FABP3 and LEPR gene polymorphisms with the drip loss trait of pork. *Journal of Agricultural Technology*, 11(1), 69-76.
- NTC 1556. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (2008). Carne y Productos Cárnicos. Métodos para determinar el contenido de nitrógeno. Método de referencia y Método de rutina. Segunda actualización.

NTC 1662. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (2008). Carne y Productos Cárnicos. Métodos de determinación del contenido de grasa total. Método de referencia y Método de rutina. Primera actualización.

NTC 1663. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (2009). Carne y Productos Cárnicos. Métodos de determinación del contenido de humedad. Método de referencia y Método de rutina. Segunda actualización.

NTC 1678. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (1999). Carne y Productos Cárnicos. Determinación del contenido de Ceniza. Primera actualización.

O'Leary, M., & Gatesy, J. (2008). Impact of increased character sampling on the phylogeny of Cetartiodactyla (Mammalia): combined analysis including fossils. *Cladistics*, 24(4), 397-442.

Orliac, M. J., Pierre, A., & Ducrocq, S. (2010). Phylogenetic relationships of the Suidae (Mammalia, Cetartiodactyla): new insights on the relationships within Suoidea. *Zoologica Scripta*, 39(4), 315-330.

Ortiz, W. B., & Sánchez, M. D. (2001). Los cerdos locales en los sistemas tradicionales de producción. *Food & Agriculture Org* Vol. 148 45.

Oslinger, A., Muñoz, J., Álvarez, L., Ariza, F., Moreno, F., & Posso, A. (2006). Caracterización de cerdos criollos colombianos mediante la técnica molecular RAMs. *Acta Agronómica*, 55(4), 45-50.

Otsu, K., Phillips, M., Khanna, V., de Leon, S., & MacLennan, D. (1992). Refinement of diagnostic assays for a probable causal mutation for porcine and human malignant hyperthermia. *Genomics*, 13(3), 835-837.

Otto, G., Roehe, R., Looft, H., Thoelking, L., Knap, P. W., Rothschild, M. F., ... & Kalm, E. (2007). Associations of DNA markers with meat quality traits in pigs with emphasis on drip loss. *Meat Science*, 75(2), 185-195.

Óvilo, C., Oliver, A., Noguera, J., Clop, A., Barragán, C., Varona, L., ... & Silió, L. (2002). Test for positional candidate genes for body composition on pig chromosome 6. *Genetics Selection Evolution*, 34(4), 465-480.

- Óvilo, C., Fernández, A., Rodríguez, M., Nieto, M., & Silió, L. (2006). Association of MC4R gene variants with growth, fatness, carcass composition and meat and fat quality traits in heavy pigs. *Meat science*, 73(1), 42.
- Óvilo, C., Fernández, A., Fernández, A., Folch, J., Varona, L., Benítez, R., ... & Silió, L. (2010). Hypothalamic expression of porcine leptin receptor (LEPR), neuropeptide Y (NPY), and cocaine-and amphetamine-regulated transcript (CART) genes is influenced by LEPR genotype. *Mammalian Genome*, 21(11-12), 583-591.
- Padilla, J., Portilla, F., Salazar, J., Parejo, J., Martínez, M., Rabasco, A., ... & Hernández, F. (2010). Detección múltiple de SNPs relacionados con crecimiento y calidad de carne en porcino. *Archivos de Zootecnia*, 59(226), 233-244.
- Park, H. B., Carlborg, Ö., Marklund, S., & Andersson, L. (2002). Melanocortin-4 receptor (MC4R) genotypes have no major effect on fatness in a Large White x Wild Boar intercross. *Animal genetics*, 33(2), 155-157.
- Pava, R. (2009): Búsqueda de patrones repetidos en secuencias biológicas, Avance de Seminario, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.
- Pérez, I. J. (1989). Comportamiento de la raza porcina San Pedreño pura y mestiza. *Azoodea. Primer Simposio nacional sobre investigación en porcicultura, Medellín, junio 29-30.*
- Petracci, M., Bianchi, M., Cavani, C., (2009). The European perspective on pale, soft, exudative conditions in poultry. *Poultry Sci.* 88, 1518-1523.
- Piórkowska, K., Tyra, M., Rogoz, M., Ropka-Molik, K., Oczkiewicz, M., & Rózycki, M. (2010). Association of the melanocortin-4 receptor (MC4R) with feed intake, growth, fatness and carcass composition in pigs raised in Poland. *Meat science*, 85(2), 297-301.
- Porter, V. (2002). Mason's world dictionary of livestock breeds, types and varieties. *Mason's world dictionary of livestock breeds, types and varieties*, (Ed. 5).
- Poveda, C., & Moncada, A. (1986): Descripción y evaluación Zootécnica del cerdo Casco de Mula y sus cruces con razas mejoradas. *Revista Nacional de Zootecnia*. 3(14) 34-38.

- Price, S., Bininda, O., & Gittleman, J. (2005). A complete phylogeny of the whales, dolphins and even-toed hoofed mammals (Cetartiodactyla). *Biological reviews*, 80(3), 445-473.
- Purslow, P., Archile, A., & Cha, M. (2012). Meat Science and Muscle Biology Symposium: manipulating meat tenderness by increasing the turnover of intramuscular connective tissue. *Journal of animal science*, 90(3), 950.
- Ramayo, Y., Castelló, A., Pena, R., Alves, E., Mercadé, A., Souza, C., ... & Folch, J. (2010). Copy number variation in the porcine genome inferred from a 60 k SNP BeadChip. *BMC genomics*, 11(1), 593.
- Restrepo, D. A., Arango, C. M., Amézquita, A., & Restrepo, R. A. (2001). Industria de carnes. *Universidad Nacional de Colombia, Medellín*.
- Rodríguez, V., Sánchez, M., Arce, C., García, A., Perea, J., & Gómez, A. (2012). Consumption of Acorns by Finishing Iberian Pigs and Their Function in the Conservation of the Dehesa Agroecosystem 1-22.
- Ronaghi, M. (2001). Pyrosequencing sheds light on DNA sequencing. *Genome research*, 11(1), 3-11.
- Rossi, D., & Sorrentino, V. (2002). Molecular genetics of ryanodine receptors Ca²⁺ release channels. *Cell calcium*, 32(5-6), 307.
- Ruan, G., Xing, Y., Fan, Y., Qiao, R., He, X., Yang, B., ... & Xiao, S. (2013). Genetic variation at RYR1, IGF2, FUT1, MUC13, and KPL2 mutations affecting production traits in Chinese commercial pig breeds. *Czech Journal of Animal Science*, 58(2), 65-70.
- Sabogal, R., & Owen B., (1992). Cerdo Zungo. Los animales domésticos criollos y colombianos en la producción pecuaria nacional, *Boletín técnico del ICA*, 99.
- Santana, A. L. D. J. (2008). Medición del espesor de grasa dorsal y área del ojo del lomo en canales de jabalí (*Sus scrofa* L): su relación con la cantidad de grasa y músculo. Tesis de Grado, Universidad Austral de Chile.

Salazar, L. (2009). Evaluación y rendimiento en canal de res y de cerdo e impacto económico en la industria cárnica. *Corporación Universitaria Lasallista*, 18-48.

Sasaki, T., Tahira, T., Suzuki, A., Higasa, K., Kukita, Y., Baba, S., & Hayashi, K. (2001). Precise estimation of allele frequencies of single-nucleotide polymorphisms by a quantitative SSCP analysis of pooled DNA. *The American Journal of Human Genetics*, 68(1), 214-218.

Schmid, A. (2010). The role of meat fat in the human diet. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(1), 50-66.

Seidel, M., & Niessner, R. (2014). Chemiluminescence microarrays in analytical chemistry: a critical review. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 406(23), 5589-5612.

Škrlep, M., Čandek-Potokar, M., Kavar, T., Žlender, B., Hortós, M., Gou, P., ... & Santé, V. (2010). Association of PRKAG3 and CAST genetic polymorphisms with traits of interest in dry-cured ham production: Comparative study in France, Slovenia and Spain. *Livestock Science*, 128(1), 60-66.

Sobrino, B., Brión, M., & Carracedo, A. (2005). SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. *Forensic science international*, 154(2), 181-194.

Solís, M., De Pedro, E., Garrido, A., García, J., Silió, L., Rodríguez, C., & Rodrigáñez, J. (2001). Evaluación de la composición del lomo de cerdo ibérico mediante la tecnología NIRS. *ITEA*, 22(2), 613-615.

Stachowiak, M., Szydlowski, M., Obarzanek-Fojt, M., & Switonski, M. (2006). An effect of a missense mutation in the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene on production traits in Polish pig breeds is doubtful. *Animal genetics*, 37(1), 55-57.

Stinckens, A., Van den Maagdenberg, K., Luyten, T., Georges, M., De Smet, S., & Buys, N. (2007). The RYR1 g. 1843C> T mutation is associated with the effect of the IGF2 intron3-g. 3072G> A mutation on muscle hypertrophy. *Animal genetics*, 38(1), 67-71.

Stinckens, A., Luyten, T., Van den Maagdenberg, K., Janssens, S., De Smet, S., Georges, M., & Buys, N. (2009). Interactions between genes involved in growth and muscularity in pigs: IGF-2, myostatin, ryanodine receptor 1, and melanocortin-4 receptor. *Domestic animal endocrinology*, 37(4), 227-235.

- Stone, J., O'Donovan, M., Gurling, H., Kirov, G., Blackwood, D., Corvin, A., ... & Kwan, S. (2008). Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. *Nature*, *455*(7210), 237-241.
- Sun, C., Wang, L., Jiang, D. F., & Zhang, B. (2009). Missense mutations in exon 2 of the porcine leptin receptor gene and their associations with litter size and body weight. *Czech Journal of Animal Science*, *54*(5), 210-216.
- Syvänen, A. C. (1999). From gels to chips: "minisequencing" primer extension for analysis of point mutations and single nucleotide polymorphisms. *Human mutation*, *13*(1), 1-10.
- Te Pas, M., Keuning, E., Hulsegge, B., Hoving-Bolink, A., Evans, G., & Mulder, H. (2010). Longissimus muscle transcriptome profiles related to carcass and meat quality traits in fresh meat Pietrain carcasses. *Journal of animal science*, *88*(12), 4044-4055.
- Tejerina, D., García, S., & Cava, R. (2012). Water-holding capacity and instrumental texture properties of m. Longissimus dorsi and m. Serratus ventralis from Iberian pigs as affected by the production system. *Livestock Science*, *148*(1), 46-51.
- Tusa, K. (2012). Estudio de la Calidad de la Canal y la Carne del Cerdo Chato Murciano Explotado en Sistema Extensivo y Alimentado con piseso, balanceados y suplementado con frutos de la propia explotación (Almendra, Prunus Amigdalina).
- Uemoto, Y., Soma, Y., Sato, S., Ishida, M., Shibata, T., Kadowaki, H., ... & Suzuki, K. (2012). Genome-wide mapping for fatty acid composition and melting point of fat in a purebred Duroc pig population. *Animal genetics*, *43*(1), 27-34.
- Urban, T., Mikolasova, R., Kuciel, J., Ernst, M., & Ingr, I. (2002). A study of associations of the H-FABP genotypes with fat and meat production of pigs. *Journal of Applied Genetics*, *43*(4), 505-510.
- Uytterhaegen, L., Claeys, E., & Demeyer, D. (1994). Effects of exogenous protease effectors on beef tenderness development and myofibrillar degradation and solubility. *Journal of animal science*, *72*(5), 1209-1223.

- Vaisse, C., Clement, K., Durand, E., Hercberg, S., Guy-Grand, B., & Froguel, P. (2000). Melanocortin-4 receptor mutations are a frequent and heterogeneous cause of morbid obesity. *Journal of Clinical Investigation*, 106(2), 253-262.
- Van der Steen, H., Prall, G., & Plastow, G. (2005). Application of genomics to the pork industry. *Journal of Animal Science*, 83(13 suppl), E1-E8.
- Van Laack, R., Stevens, S., & Stalder, K. (2001). The influence of ultimate pH and intramuscular fat content on pork tenderness and tenderization. *Journal of Animal Science*, 79(2), 392-397.
- Velasquez, H. (2012). Zungo [Fotografía]. Archivo Banco de Germoplasma de CORPOICA C.I. La Libertad.
- Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M., & Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*, 34(3), 275-306.
- Villegas, C. (1961). El cerdo criollo Sampedreño. Tesis Zootecnia. Universidad. Nacional de Colombia, sede de Medellín.
- Wang, L., Yu, T. P., Tuggle, C. K., Liu, H. C., & Rothschild, M. F. (1998). A directed search for quantitative trait loci on chromosomes 4 and 7 in pigs. *Journal of animal science*, 76(10), 2560-2567.
- Wang, J., Jiang, J., Fu, W., Jiang, L., Ding, X., Liu, J., & Zhang, Q. (2012). A genome-wide detection of copy number variations using SNP genotyping arrays in swine. *BMC genomics*, 13(1), 273.
- Wardlaw, S. (2001). Obesity as a neuroendocrine disease: lessons to be learned from proopiomelanocortin and melanocortin receptor mutations in mice and men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 86(4), 1442.
- Weisz, F., Kaplanová, K., Šulcerová, H., Jůzl, M., Urban, T., & Sláma, P. (2010). Association analysis of genes CSRP3, EDG4 and PRKAG3 with meat quality in czech large white pigs. *Konference MendelNet 2010*.
- Woo, J., Imm, J., Min, C., Kim, K., Cha, S., & Oh, B. (2006). Structural and functional insights into the B30. 2/SPRY domain. *The EMBO journal*, 25(6), 1353-1363.

Young, V. R., & Pellett, P. L. (1994). Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition. *The American journal of clinical nutrition*, 59(5), 1203S-1212S.

Youssao, I., Verleyen, V., Michaux, C., & Leroy, P. L. (2002). Choice of probing site for estimation of carcass lean percentage in Pitrain pig using the real-time ultrasound. *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*, 6(4), 195-200.

Zhang, Y., Kent, J., Lee, A., Cerjak, D., Ali, O., Diasio, R., ... & Kissebah, A. (2013). Fatty acid binding protein 3 (FABP3) is associated with insulin, lipids and cardiovascular phenotypes of the metabolic syndrome through epigenetic modifications in a northern european family population. *BMC medical genomics*, 6(1), 9.

CIBERGRAFÍA

Blaiklock, P. (2012). Restriction Mapper version 3. [online]. Disponible en: <http://www.restrictionmapper.org> [Consultado el 18 de Septiembre de 2012].

Carvajal G. (2001). Valor nutricional de la carne de: res, cerdo y pollo. CORFOGA. Costa Rica. [online]. Disponible en: <http://www.corfoga.org/images/public/documentos/pdf/Corfoga2001.pdf> [Consultada 25 de Marzo de 2016].

Cárnicas Maldonado S.L. (2016). Cerdo Ibérico [Fotografía]. Obtenida el 19 de Marzo de 2016. <http://ibericosmaldonado.com/wp-content/uploads/2015/08/cerdo-e1441028539824.png>

Fao.org. (2015). Cerdos y la producción animal. FAO División de Producción y Sanidad Animal. [online] disponible en: <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/pigs/production.html> [Consultada el 20 Marzo de 2016].

Grant Heilman Photography inc. (2013). Duroc boar [Fotografía]. Obtenida el 23 de Abril de 2013. <http://media-2.web.britannica.com/eb-media/50/550-004-25DB8768.jpg>

Health Canada. (2012). Canadian Nutrient File, Food Code: 1931 [online]. Disponible en: <http://webprod3.hc-sc.gc.ca/cnf-fce/serving-portion.do?lang=eng&id=1931> [Consultado el 28 de Marzo de 2016].

Huertas, N. (2014). Vida de almacenamiento y vida de anaquel de carne fresca y congelada de cerdo. U.S Meat Export Federation-Mexico [pdf]. Obtenida el 2 de Noviembre de 2015: <http://www.usmef.org.mx/USmeat2/PDFs/Handout%208%20vida%20util%20de%20carne%20de%20Cerdo.pdf>

Lefever L. for Grant Heilman Photography inc. (2013). Hampshire. [Fotografía]. Obtenida el 23 de Abril de 2013. <http://media-2.web.britannica.com/eb-media/51/551-004-3BADB274.jpg>

Lefever L. for Grant Heilman Photography inc. (2013). Landrace: boar [Fotografía]. Obtenida el 23 de Abril de 2013. <http://media-2.web.britannica.com/eb-media/55/555-004-17302517.jpg>

Montes de Oca, H., Rothschild, M., & Chávez, C. (2006). La genética como factor de competitividad. (En Línea). PIC. Querátoro de Artiaga, México. Citado el 10 de Mayo de 2013. Disponible en http://engormix.com/s_articles_view.asp?art=797

NCBI BLAST (2012). BLAST: Basic Local Alignment Search Tool. [online]: Disponible en: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov> [Consultado el 14 de Septiembre de 2012].

NCBI PRIMER BLAST (2012). Primer designing tool. [online] Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/> [Consultado el 14 de Septiembre de 2012].

Northwestern University. (2012). OligoCalc: Oligonucleotide Properties Calculator. [online] A Disponible en: <http://biotools.nubic.northwestern.edu/OligoCalc.html> [Consultado el 14 de Septiembre de 2012].

Semen Cardona S. L, (2014). Línea EBX Pietrain [Fotografía]. Obtenida el 19 de Marzo de 2016. <http://www.semencardona.com.mx/productos/verraco/linea-ebx-pietrain--31>.