

CARACTERIZACIÓN DE CERDOS CRIOLLOS COSTEROS (*Sus scrofa*, LINNAEUS 1758) DE BAHÍA DE SAMBOROMBÓN, MEDIANTE EL USO DE MARCADORES MOLECULARES ASOCIADOS A CALIDAD DE CARNE

Trabajo Final de Grado
del alumno



**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Pergamino, 11 de marzo de 2019

CARACTERIZACIÓN DE CERDOS CRIOLLOS COSTEROS (*Sus scrofa*, LINNAEUS 1758) DE BAHÍA DE SAMBOROMBÓN, MEDIANTE EL USO DE MARCADORES MOLECULARES ASOCIADOS A CALIDAD DE CARNE

Trabajo Final de Grado

del alumno

LAUREANO ÁNGEL ESPAÑOL

Aprobada por el Tribunal Evaluador

Dra. María Lorena Roldan
Evaluador

Dr. Ángel Patitucci
Evaluador

Ing. Agr. Susana Pistorale
Evaluador

Dr. Mariano Lisandro Merino
Co-Director

Lic. MSc. Sebastián José Marini
Director

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires**

Pergamino, 11 de marzo de 2019

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, responsable de que hoy me encuentre en esta instancia. Por su apoyo incondicional y por ayudarme a nunca bajar los brazos frente a cualquier adversidad.

A mi padre, mi única estrella en el cielo. Siempre recuerdo tu gran entusiasmo durante mis inicios en la universidad, la vida nos privó de compartir esta alegría juntos. Sin ninguna duda, sé que estarías orgulloso. ¡Te echo de menos, Pa!

A mi primo y hermano del alma, Nico. Por todo lo vivido y compartido, siempre codo a codo y apoyándonos mutuamente ante cada decisión.

A mis amigos de Alfonzo y Pergamino, con quienes compartí los momentos más felices de mi vida. Siempre dando una mano sin esperar nada a cambio.

A mis tíos, tías y primos por sus palabras de aliento y motivación a cada momento.

Gracias a todos los compañeros que tuve durante mi trayecto en la Universidad. Por las charlas, los mates en clases y los días de estudio compartidos. Como así también a los profesores, quienes saben como despertar la curiosidad e interés en cada asignatura dictada.

A Seba y Mariano, por darme la posibilidad de realizar mi tesis de grado. Siempre disponibles ante cualquier inquietud.

... a cada persona que influyó positivamente para que concrete mis estudios. A cada uno de ellos ¡MUCHAS GRACIAS!

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. CERDO CRIOLLO COSTERO	5
1.2. MARCADORES MOLECULARES	9
2. HIPÓTESIS	12
3. OBJETIVOS	13
3.1. Objetivo general:.....	13
3.2. Objetivos específicos:.....	13
4. PALABRAS CLAVES	13
5. MATERIALES Y MÉTODOS	13
5.1. Área de estudio.....	13
5.2. Toma de muestras	14
5.4. Extracción de ADN	16
5.5. RFLP- PCR.....	16
5.6. Frecuencia alélica y genotípica.....	18
6. RESULTADOS	18
6.1. Marcadores moleculares	18
6.1.1. Gen Halotano	18
6.1.2. PRKAG3.....	20
6.1.3. H-FABP3	22
6.1.4. MC4R	24
7. DISCUSIÓN	27
8. CONCLUSIÓN	32
9. BIBLIOGRAFIA	33

1. INTRODUCCIÓN

1.1. CERDO CRIOLLO COSTERO

Introducción del cerdo en América

Los cerdos domésticos ingresaron a América en 1493, durante el segundo viaje de Cristóbal Colón, donde visitó islas caribeñas como La Española (actualmente Haití y República Dominicana). Fácil de transportar y de mantener durante los viajes, el cerdo fue una excelente fuente de alimento para los conquistadores. A partir de su introducción, fue expandiéndose por las nuevas colonias principalmente del Caribe y norte de Sudamérica (Patiño, 1970). Por la costa atlántica de Sudamérica, los primeros cerdos arriban al puerto de San Vicente en el litoral del actual estado de San Pablo, Brasil, en 1532; provenientes de la península Ibérica y posiblemente de las islas de Cabo Verde y Canarias, escalas previas a llegar a América (Justo, 1996).

En el año 1536 llegan con Pedro de Mendoza los primeros cerdos al Río de la Plata, durante la primera fundación de Buenos Aires. Unos años después, en 1541, se abandona este primitivo asentamiento dejando algunos ejemplares en libertad (Giberti, 1985; Iriart, 1997), a partir de los cuales se originan las primeras poblaciones ferales de Argentina, ocupando rápidamente las planicies y serranías de la actual provincia de Buenos Aires (Morris, 1742; Cardiel, 1930; Sánchez Labrador, 1936). Estos primeros ejemplares tenían sus orígenes en razas ibéricas tanto hispánicas (Negra lampiña, Rubia andaluza, Gallega, Manchado de Jabugo y Perigordina) como Portuguesas (Bizarra y Alentejana), así como también de razas locales de las Islas Canarias, Cabo Verde y de los asentamiento portugueses de Río de Janeiro, escalas del viaje de Mendoza hacia el río de La Plata (Freitas y Rosado, 2014).

Actualmente las poblaciones de cerdos ferales o cimarrones¹ ocupan una amplia región del país, una de las más importantes en cuanto a su tamaño y antigüedad (casi cinco siglos) es la establecida en la región de la Bahía de Samborombón (este de la provincia de Buenos Aires) siendo su acervo genético de origen europeo (Acosta *et al.*, 2017), específicamente del tronco ibérico (Figuerola, 2014).

¹ Poblaciones ferales o “cimarronas”: Se refiere al establecimiento de poblaciones de especies domésticas que fueron introducidas y que se han establecido en el medio silvestre. Es decir, los animales que dan origen a poblaciones ferales son siempre animales domésticos como ganado bovino, caprino, porcinos, equinos o perros, gatos etc. (Lever, 1985).

Los factores medio ambientales influyen en los aspectos productivos, pero, quizás, la cualidad más importante del cerdo criollo es su capacidad de adaptación a las condiciones adversas, lo que le ha permitido su sobrevivencia y la perpetuación de la especie (Benítez Ortiz, 2001)

Los cerdos ferales de la Bahía de Samborombón pertenecen al tipo denominado cerdo criollo costero. Los cuales poseen pelaje negro abundante y hocico alargado como características morfológicas distintiva (Figura 1). Son descendientes directo de cerdos introducidos por los colonizadores españoles durante los primeros años de la conquista americana; donde gracias a su gran capacidad de adaptación al medio, dieta omnívora y éxito reproductivo, han establecido e incrementado su número significativamente. Los productores locales mantienen cerdos criollos costeros, obtenidos mediante la caza, que se adaptan a las condiciones de cautiverio para el consumo familiar, producción de chacinados y para obtener cruzas con otras razas. Según relatos de los productores, las ventajas que posee el cerdo criollo costero es que las cerdas paren entre cuatro y ocho lechones llegando, generalmente, el 100% de las crías al destete. Además, poseen resistencia a distintas enfermedades y se adaptan fácilmente a una alimentación de residuos o subproductos consumiendo menor cantidad que una raza mejorada (Carpinetti *et al.*, 2016a).



Figura 1: Cerdo Criollo Costero asilvestrado de la Bahía de Samborombón (Tomado de Carpinetti *et al.*, 2016a)

Producción porcina en Bahía de Samborombón

La provincia de Buenos Aires es la de mayor importancia respecto a su producción porcina, con un 27,91% del stock nacional (MINAGRI 2017).

En la Cuenca del Salado (Figura 2), y especialmente en la región que rodea a Bahía de Samborombón, la producción porcina se da en establecimientos diversificados, que pertenecen a productores familiares y tienen a los cerdos como una producción complementaria, que cumple tanto con propósitos de autoconsumo, como así también de venta de excedentes. Se caracterizan por la precariedad de sus instalaciones en todas las etapas de producción, por la utilización de alimentos no específicos para porcinos y por la utilización de razas rústicas adaptadas a estos sistemas. La región está integrada por los partidos de Punta Indio, Chascomús, Castelli, Tordillo y Gral. Lavalle, en ella existe una importante cantidad de productores porcinos de nivel familiar, los cuales comparten el ambiente con una de las mayores poblaciones de cerdos silvestres del país (Figura 3) (Pérez Carusi *et al.*, 2009; Merino y Carpinetti, 2003).

Teniendo en cuenta la importancia de los cerdos criollos en la producción porcina de la Cuenca del Salado y otras zonas aledañas a la Bahía de Samborombón, es necesario caracterizar a este recurso zoogenético. Por un lado, para establecer su potencial como

producto carnicero y por otro para fomentar su conservación. Una de las formas para caracterizarlo es mediante la utilización de marcadores moleculares.

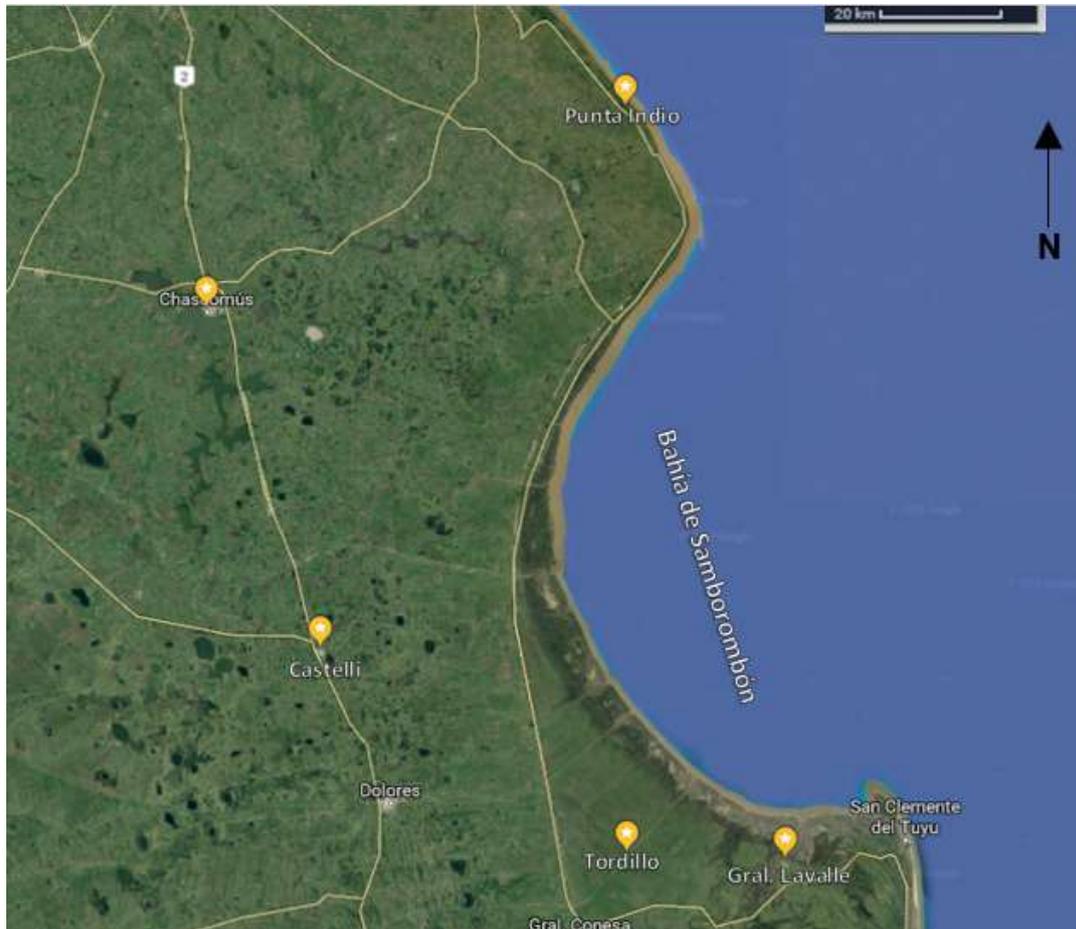


Figura 2: Bahía de Samborombón y los principales partidos de la Cuenca del Salado con producción porcina familiar (Punta Indio, Chascomús, Castelli, Tordillo, Gral. Lavalle) (Fuente: elaboración propia en base a GoogleMaps).



Figura 3: Cerda criolla costera en sistema de producción familiar con su primera camada. Las Tahonas Provincia de Buenos Aires. (Tomado de Carpinetti *et al.*, 2016a)

1.2. MARCADORES MOLECULARES

La información sobre la diversidad genética es esencial para optimizar tanto las estrategias de conservación de los recursos zoogenéticos como las de utilización. Dado que los recursos para la conservación son limitados, suele ser necesaria una priorización. Las nuevas herramientas moleculares permiten la identificación de genes implicados en un conjunto de caracteres, incluyendo los caracteres adaptativos, así como los polimorfismos que causan la variación genética funcional (FAO, 2010).

El avance en la biotecnología del ADN permitió innumerables aplicaciones entre las que se encuentra la detección de genes de interés productivo o marcadores moleculares asociados a calidad de carne (De Vries *et al.*, 1999). Actualmente se conocen dos genes de efecto mayor cuya segregación está estrechamente relacionada a la calidad de carne en cerdos, el gen receptor de ryanodina 1 (RYR1, por sus siglas en inglés) o Halotano y el gen que codifica para la subunidad gama 3 de la proteína cinasa activada por AMP (PRKAG3, por sus siglas en inglés) o Rendimiento Napole (RN). También se describieron genes de menor efecto como el gen receptor de melanocortina 4 (MC4R, por sus siglas en inglés) y el gen que codifica para la proteína de unión a ácidos grasos de tipo cardiaco (FABP3 o H-FABP3, por sus siglas en inglés). A continuación, se describen estos cuatro marcadores moleculares asociados a calidad de carne en cerdos.

Gen Halotano

El sector productor de cerdos, a nivel mundial, se ha esforzado en seleccionar cerdos magros. Sin embargo, a partir de la década de los sesenta, se observó que los resultados de selección iban unidos a una alta mortalidad por estrés. Se detectó que la selección de reproductores con mejores características magras y mayor desarrollo muscular implicaba animales enfermos o portadores de la enfermedad Síndrome de estrés porcino (PSS, por sus siglas en inglés) o Hipertermia maligna (HM), transmitiendo a la descendencia el carácter (Calvo *et al.*, 1997).

El gen RYR1, también llamado gen Halotano, posee una expresión tejido específico (músculo esquelético estriado y células de Purkinje en el encéfalo) que codifica para la proteína Receptor de Ryanodina 1 o Canal liberador de Calcio (CRC) encargado de la regulación del transporte de calcio durante la contracción muscular.

Este gen posee un alelo con una mutación puntual recesiva en su cadena de ADN y en su forma homocigota produce el PSS que puede conducir a la muerte del animal en condiciones de estrés. Además, provoca la aparición de carnes con aspecto pálido, blando y exudativo (PSE) (O'Brien, 1995; Bonelli y Schifferli, 2001; Martínez-Quintana *et al.*, 2006).

Esta mutación autosómica recesiva consiste en la sustitución de una citosina por una timina en la posición 1843 de la secuencia de ADN del gen *ryr1*, ubicado en el cromosoma 6p11-q21 del cerdo, que lleva a la sustitución de una arginina por una cisteína en la posición 615 del CRC del animal afectado (Fujii *et al.* 1991).

Los animales con homocigosis recesiva del gen *ryr1* presentan una activación hipersensible del CRC, facilitando su apertura e inhibiendo su cierre, lo que conduce a una liberación de calcio continua desde el retículo sarcoplásmico hacia el citosol del miocito, aumentando su concentración. El metabolismo aeróbico, la glucogenólisis y la glucólisis se incrementan, agotando el ATP, la glucosa y el oxígeno, produciendo un exceso de dióxido de carbono, ácido láctico, potasio y calor en la sangre, esta temperatura aumenta ya que la capacidad del animal de perder calor mediante sudor es prácticamente nula, esto hace que sea particularmente sensible a las temperaturas elevadas, especialmente cuando otros mecanismos de pérdida de calor, como la vasodilatación, se ven comprometidos a consecuencia de la respuesta al estrés. Además, presentan un desorden en el balance de iones intra y extracelular, llevando asimismo a un acúmulo de agua en la célula. La asociación marcada entre la respuesta al estrés fisiológico, con hipercatecolemia, produce paro cardíaco. Esta anomalía lleva a un estado

de contracción permanente de la célula muscular provocando hipertrofia, con el consiguiente aumento del desarrollo muscular (Fuji *et al.*, 1991; O'Brien, 1995).

Los cerdos con la mutación en su forma homocigota recesiva presentan afectada la composición del tipo de fibra muscular y el tamaño de la fibra, incrementando el porcentaje de fibras glucolíticas, lo cual conduce a una aceleración de la disminución del pH post-mortem y a la aparición de carnes PSE. (Lefaucheur, 2001).

Rendimiento Napole

El gen PRKAG3, también conocido como Rendimiento Napole (RN), codifica para la subunidad gama 3 de la proteína cinasa activada por AMP y está ubicado en el cromosoma 15q21-22 del cerdo (Naveau, 1986; Milan *et al.*, 1996). Este gen, posee una mutación puntual que reemplaza una guanina por una adenina en la posición 1849 de la secuencia de ADN y provoca una sustitución del aminoácido Arginina por una Glutamina en la posición 200 (R200Q) de la proteína PRKAG3, este genotipo se observó solo en la raza Hampshire (Milan *et al.*, 2000). Esta mutación afecta la calidad de la carne y baja el rendimiento para embutidos, debido al aumento del contenido de glucógeno en el músculo. Esto genera un mayor potencial glucolítico y como consecuencia carnes con un pH final (24 hs post mortem) más bajo (<5.5) (Monin y Sellier, 1985; Naveau *et al.*, 1985). Este pH más bajo conduce a un doble aumento de la pérdida por goteo, un color más pálido y una mayor pérdida de líquido durante la cocción (Garipey *et al.*, 1997).

Su locus está determinado por dos alelos, RN- (desfavorable) y rn+ (Le Roy *et al.*, 1990).

Receptor de Melanocortina 4

El gen Receptor de Melanocortina 4 (MC4R), localizado en el cromosoma 1q22 del cerdo (Kim *et al.*, 2000a) posee una mutación puntual de una guanina por una adenina que provoca un cambio en la cadena de aminoácidos sustituyendo al aspartato en la posición 298 por una aspargina (asp298asn). Las células que presentan MC4R con el aminoácido asn298, poseen una menor actividad del receptor y menor acumulación de cAMP intracelular en respuesta a la hormona estimulante de melanocitos α (α -MSH,) en comparación con células que poseen MC4R con asp298 (Kim *et al.*, 2004). Interesantemente, los individuos homocigotos para el alelo G presentan menor deposición de grasa dorsal, menor crecimiento diario y menor consumo de alimento que los individuos homocigotos para el alelo A (Kim *et al.*, 2000b).

El desarrollo de cerdos domésticos modernos implicó una selección intensiva, que se centró en un mayor crecimiento en condiciones de alimentación *ad libitum*, y esas razas (por ejemplo, Duroc y Hampshire) tienen una alta frecuencia del alelo MC4R asn298 que se asocia con un mayor crecimiento y rasgos de ingesta de alimento. Sin embargo, en razas en crecimiento no seleccionadas (por ejemplo, Meishan chino y jabalí europeo) el alelo asp298 MC4R está completamente fijado (Kim *et al.*, 2000a; Kim *et al.*, 2000b).

Proteína de unión a ácidos grasos de tipo cardiaco

Las proteínas de unión a ácidos grasos intracelulares (FABP) comprenden una familia de proteínas que se unen a ácidos grasos de cadena larga mediando su transporte en la célula (Storch y Thumser, 2000).

La proteína de unión a ácidos grasos de tipo cardiaco (HEART-FABP o H-FABP3), es una proteína de 15 kDa conocida por su abundante presencia en los tejidos (intestino, hígado, riñón, glándula mamaria y corazón incluyendo músculo esquelético rojo) e involucrada en la captación o utilización de ácidos grasos de cadena larga (Glatz *et al.*, 2003). El gen FABP3 también está relacionado con la acumulación de adipocitos y con la calidad de la carne, afectando la variación fenotípica del contenido de espesor de grasa dorsal y grasa intramuscular (Gerbens *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2010).

Dicho gen se encuentra ubicado en el cromosoma 6q21-26 del cerdo (Gerbens *et al.*, 1997) y presenta distintos polimorfismos, que en condición de homocigosis generan diferencias significativas, en distintas razas, para contenido de grasa intramuscular, espesor de grasa dorsal y peso corporal (Gerbens *et al.*, 1999).

La importancia del presente trabajo radica en la caracterización de un potencial recurso zoogenético aún no explorado como es el cerdo criollo costero, utilizado por productores locales para consumo y venta de productos elaborados. Se estudiará la presencia, variabilidad y frecuencia de diferentes marcadores moleculares que están asociados a calidad de carne con el objetivo de aumentar el conocimiento y hacer un mejor uso de este recurso genético como así también promover su preservación como fuente de diversidad genética

2. HIPÓTESIS

Los cerdos criollos costeros no presentan variabilidad para marcadores moleculares asociados a calidad de carne.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general:

Analizar marcadores moleculares asociados a calidad de carne en cerdos criollos costeros de la Bahía de Samborombón.

3.2. Objetivos específicos:

- Obtener las frecuencias alélicas de los genes RYR1, PRKAG3, MC4R y FABP3 en la población de cerdos criollos costeros.
- Determinar las frecuencias genotípicas de los genes RYR1, PRKAG3, MC4R y FABP3 en la población de cerdo criollo costero

4. PALABRAS CLAVES

Gen Halotano- Rendimiento Napole- Cerdos silvestres- Síndrome de estrés porcino- carnes PSE- MC4R- FABP3

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Área de estudio

La Bahía de Samborombón es el humedal mixohalino más extenso de la Argentina (244.000 has), está ubicada en el noreste de la provincia de Buenos Aires, se extiende a lo largo de 150 kilómetros sobre la costa occidental del estuario del Río de la Plata, desde Punta Piedras (35° 27'S; 56° 45'O) hasta Punta Rasa (36° 22'S; 56° 35'O). Abarca en su extensión, una franja terrestre variable de 2 a 23 km de ancho y una porción de aguas someras hasta la isobata de 3,5 metros. Constituye una zona de interacción entre los ecosistemas acuático y terrestre, y de mezcla entre las aguas del Río de la Plata y el Océano Atlántico, lo que crea condiciones ecológicas particulares que le permite ser el sustento de una gran biodiversidad (Figura 4) (Carpinetti et al., 2016a).

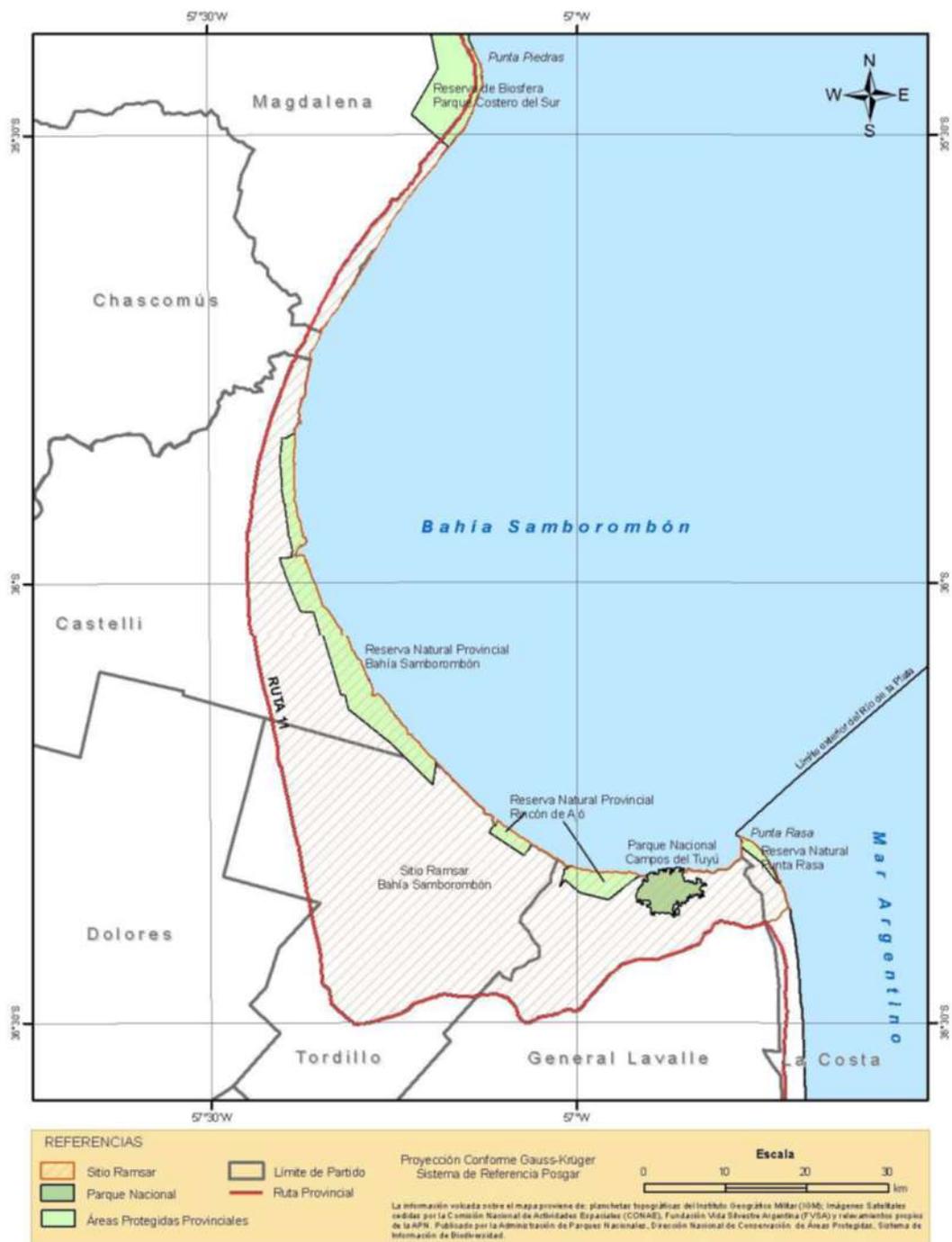


Figura 4: Humedal de la Bahía de Samborombón, Buenos Aires, Argentina.
(Fuente: Volpato, 2017)

5.2. Toma de muestras

Se tomaron muestras de tejido muscular de 41 ejemplares de los cuales 15 pertenecen a machos y 26 a hembras, provenientes de poblaciones ferales de cerdos criollos costeros, cazados en la zona del Canal 1 de la Bahía de Samborombón (Figura 5), durante las

tareas de control implementadas por personal del Organismo Provincial para el Desarrollo Sostenible (OPDS) y que se desarrollan mensualmente dentro del proyecto “Vigilancia epidemiológica en la población de cerdos silvestres de la Bahía Samborombón: implicancias para la salud pública, la producción animal y la conservación de la biodiversidad”. Las muestras se conservaron en alcohol 96% a -20°C en el Banco de Muestras de tejido del Centro de Bioinvestigación de la UNNOBA.

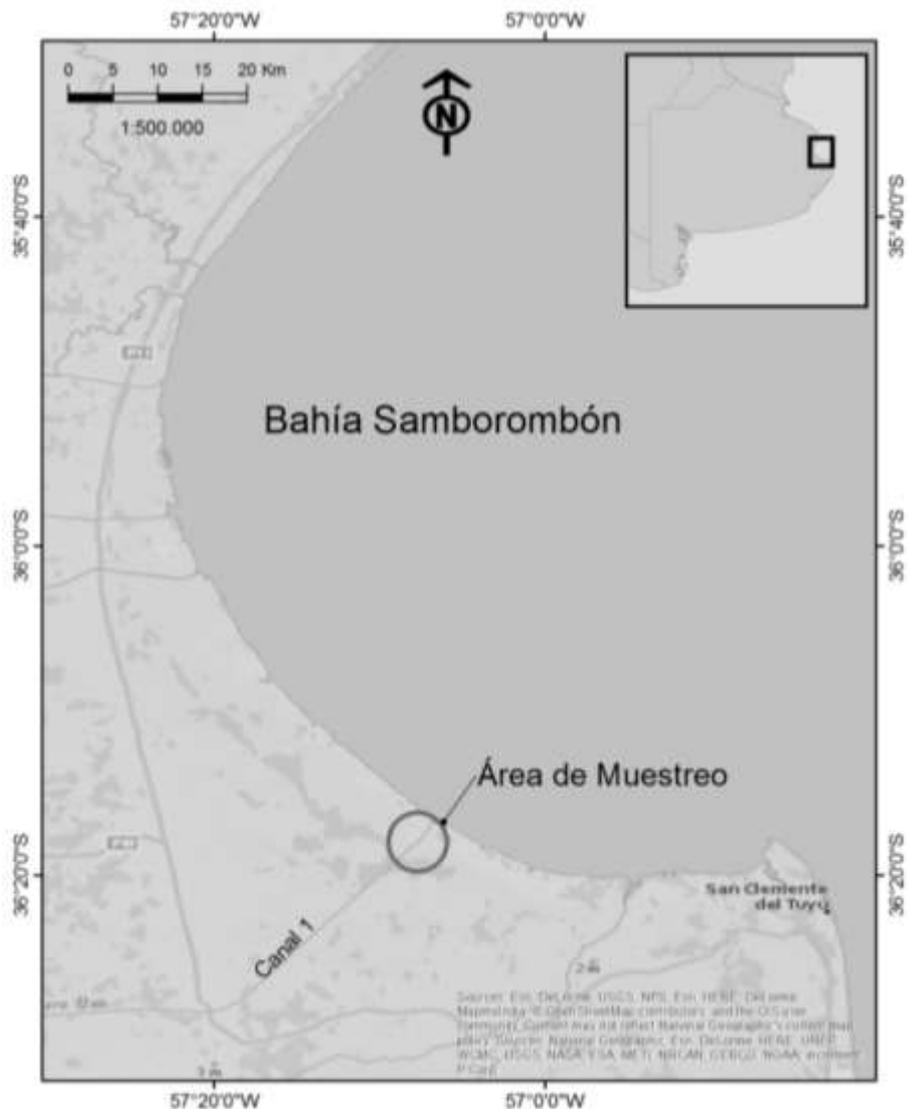


Figura 5: Zona de muestreo: Canal 1. Bahía de Samborombón, Buenos Aires, Argentina. (Fuente: Carpinetti *et al.*, 2016b)

5.4. Extracción de ADN

Se tomó 200 mg de tejido y se colocó en un tubo Eppendorf de 2 ml. Se agregó 1 ml de solución de digestión (2% p/v CTAB, 1,4 M NaCl, 15 mM EDTA pH 8, 10 mM Tris/HCl pH 8), más 5 µl de proteinasa K (20 mg/ml). Se colocó en baño con agitación a 56°C overnight. Luego, se agregó 1 ml de cloroformo-alcohol isoamílico 24:1. Se tomó 700 µl de la fase superior y se transfirió a un tubo eppendorf de 1,5 ml. Seguidamente, se adicionó 700 µl de isopropanol a -20°C y 70 µl de acetato de sodio 2,5 M. Se mezcló hasta la aparición del ADN.

Posteriormente, se centrifugó a 13000 rpm durante 15 minutos y se descartó el sobrenadante. Al pellet, se le agregó 1 ml de etanol 70%, se mezcló bien y se volvió a centrifugar a 13000 rpm durante 5 minutos. Se descartó el sobrenadante y se dejó secar el pellet. Por último, se resuspendió en 100 µl de agua bidestilada y se almacenó a -20°C.

5.5. RFLP- PCR

➤ PCR

Las reacciones de PCR fueron realizadas en un volumen final de 25 µl conteniendo 200 mM de cada dNTP, 6,5 ml de 5X Buffer PCR (Promega) con una concentración final de 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada primers, 1 U de Taq polimerasa (Promega) y 100 ng de ADN genómico.

Los pasos de PCR fueron llevados a cabo en un termociclador Veriti 96-Well de Applied Biosystems según se detallada en la Tabla 1.

➤ Digestión enzimática

Luego de la amplificación, a una alícuota de 10 µl del producto de PCR se le adicionó 5 µl de H₂O bd y 0,4 µl de la respectiva enzima de restricción (Tabla 1). El producto digerido se sometió a electroforesis en gel de agarosa al 2% con 0,1 mg/ml de bromuro de etidio, visualizado con Transiluminador UV y fotografiado usando una cámara digital Kodak EasyShare Z759.

Tabla 1: Condiciones de PCR y digestión enzimática para RFLP-PCR

RJR1	Primers	Forward: 5'-GTGCTGGATGTCCTGTGTTCCCT-3' Reverse:5'-CTGGTGACATAGTTGATGAGGTTTG-3'		
	Programa de ciclado	Temperatura	Tiempo	Ciclos
		94°C	5 min.	1
		94°C	30 seg.	40
		68°C	30 seg.	
		72°C	30 seg.	
		72°C	7min	1
	15°C	∞	1	
Digestión	Enzima	Tiempo	Temperatura	
	<i>CfoI</i> (Promega)	2 hs.	37°C	
PRKAG3	Primers	Forward 5' GGAACGATTCACCCTCAACT 3' Reverse 5' AGCTCTGCTTCTTGCTGTCC 3'		
	Programa de ciclado	Temperatura	Tiempo	Ciclos
		94°C	5 min.	1
		94°C	30 seg.	40
		68°C	30 seg.	
		72°C	30 seg.	
		72°C	7 min.	1
	15°C	∞	1	
Digestión	Enzima	Tiempo	Temperatura	
	<i>BsrBI</i> (Promega)	2 hs.	37°C	
MC4R	Primers	Forward: 5'-TACCCTGACCATCTTGATTG-3' Reverse: 5'-ATAGCAACAGATGATCTCTTTG -3'		
	Programa de ciclado	Temperatura	Tiempo	Ciclos
		94°C	5 min.	1
		94°C	30 seg.	40
		55°C	40 seg.	
		72°C	30 seg.	
		72°C	5 min.	1
	15°C	∞	1	
Digestión	Enzima	Tiempo	Temperatura	
	<i>TaqI</i> (Promega)	2 hs.	65°C	

FABP3	Primers	Forward: 5'-ATTGCTTCGGTGTGTTTGAG-3' Reverse: 5'-TCAGGAATGGGAGTTATTGG-3'		
	Programa de ciclado	Temperatura	Tiempo	Ciclos
		94°C	5 min.	1
		94°C	1 min.	35
		62°C	1 min.	
		72°C	1 min.	
		72°C	10 min.	1
		15°C	∞	1
	Digestión	Enzima	Tiempo	Temperatura
		<i>HaeIII</i> (4U) (Promega)	2 hs.	37°C

5.6. Frecuencia alélica y genotípica

La frecuencia genotípica se determinó dividiendo el número de cada genotipo sobre el número total de genotipos. La frecuencia alélica se obtuvo mediante la suma de la frecuencia genotípica del homocigota del alelo correspondiente y la mitad de la frecuencia genotípica de los heterocigotas correspondientes a cada marcador

6. RESULTADOS

6.1. Marcadores moleculares

6.1.1. Gen Halotano

La PCR genera un fragmento de 134 pb que contiene un sitio de corte para la enzima de restricción *CfoI* y genera dos fragmentos de 49 y 85 pb. El alelo dominante (N) de tipo salvaje (WT, por sus siglas en inglés) posee una C que es reemplazada por una T en el alelo recesivo desfavorable (n), esto conduce a la pérdida del sitio de corte para la enzima de restricción. Por lo tanto, cuando el alelo recesivo está presente, se observa un fragmento de 134 pb. De las 41 muestras analizadas todas presentaron los fragmentos pertenecientes al alelo N (Figura 6). Por lo tanto, no se detectó la presencia del alelo desfavorable del gen RYR1 causante de PSS y de carne PSE (Gráfico 1)

HALOTANO

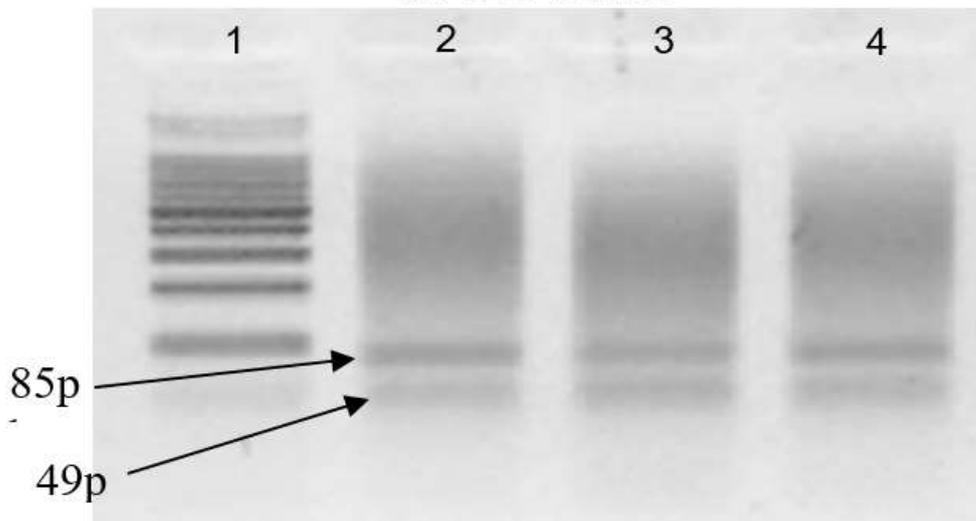


Figura 6: Electroforesis en gel de agarosa 2%. Se observan los fragmentos luego de la digestión con la enzima *CfoI*. Calle 2, 3 y 4: fragmentos de 85 pb y 49 pb correspondiente al alelo N del marcador molecular halotano. Calle 1: marcador molecular de 100pb.

NÚMERO DE GENOTIPOS

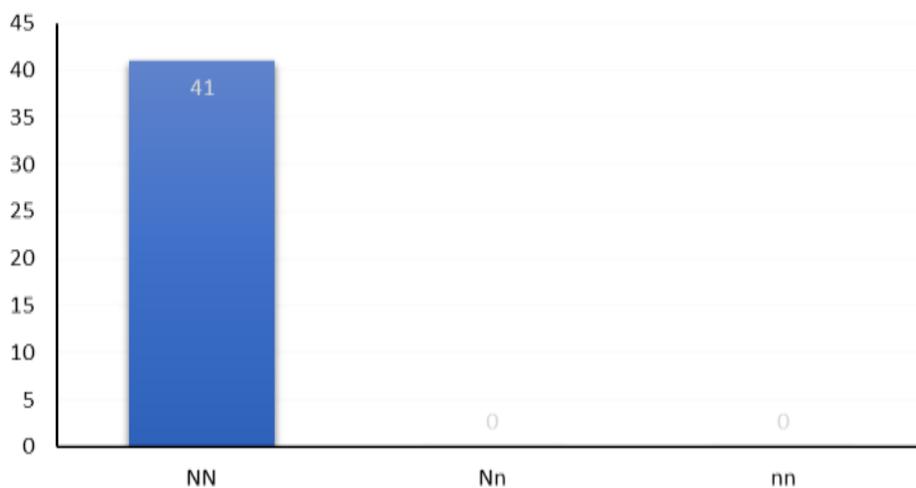


Gráfico 1: Número de genotipos homocigota dominante (NN), heterocigota (Nn) y homocigota recesivo (nn). La totalidad de los cerdos criollos costeros analizados fueron NN.

6.1.2. PRKAG3

El fragmento generado por PCR tuvo una longitud de 249 pb, donde la digestión enzimática generó fragmentos de 215 y 34 pb de longitud para los individuos normales ($rn+rn+$); 249, 215 y 34 pb para los individuos heterocigotas (RN^-rn+) y un solo fragmento de 249 pb para los individuos afectados (RN^-RN^-), producto de la pérdida del sitio de corte para la enzima *BsrBI* provocado por la sustitución de una G por una A (Figura 7).

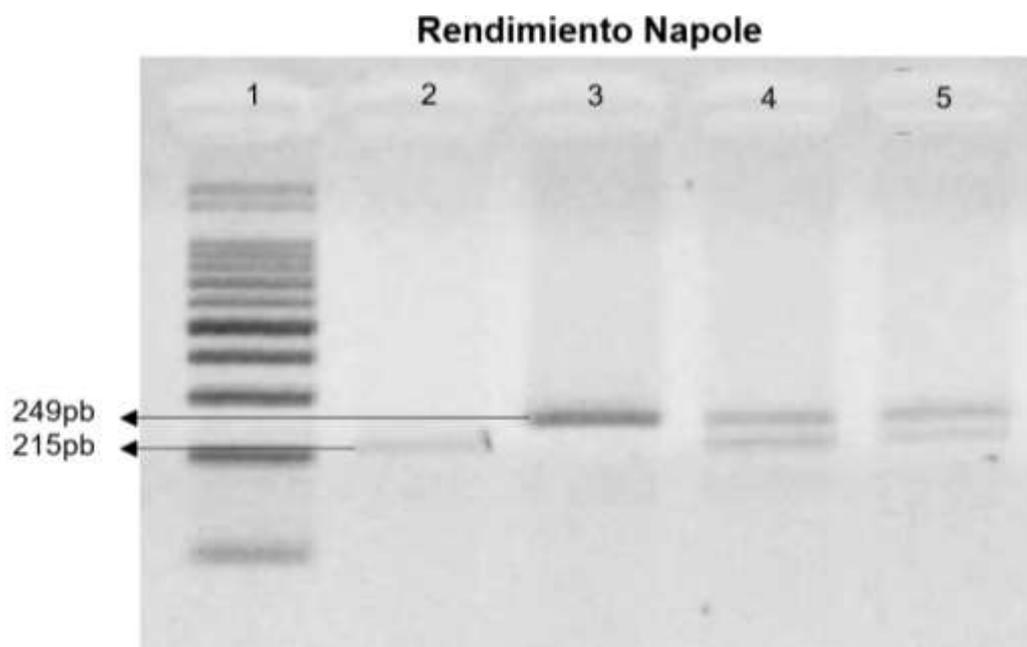


Figura 7: Electroforesis en gel de agarosa 2%. Se observan los fragmentos luego de la digestión con la enzima *BsrBI*. Calle 2: homocigota recesivo, fragmento de 215 pb correspondiente al alelo rn^+ . Calle 3: homocigota dominante, fragmento de 249 pb, correspondiente al alelo RN^- . Calles 4 y 5: heterocigota, fragmentos de 249 y 215 pb. Calle 1: marcador molecular de 100pb.

Caso contrario al gen Halotano, el marcador molecular RN^- presenta un alelo dominante con una mutación puntual desfavorable (RN^-) y un alelo recesivo WT (rn^+). Por lo tanto, los genotipos afectados serán homocigota dominante (RN^-RN^-) y heterocigotas (RN^-rn^+). Las muestras de cerdos criollos costeros analizadas presentaron variabilidad para el marcador en cuestión, obteniéndose 5 genotipos homocigota dominante, 12 heterocigotas y 24 homocigotas recesivos (Gráfico 2) con una frecuencia de 0,12, 0,29 y 0,59, respectivamente (Gráfico 3). La frecuencia del alelo WT (rn^+) fue de 0,73 y 0,27 para el alelo RN^- (Gráfico 4).

NÚMERO DE GENOTIPOS

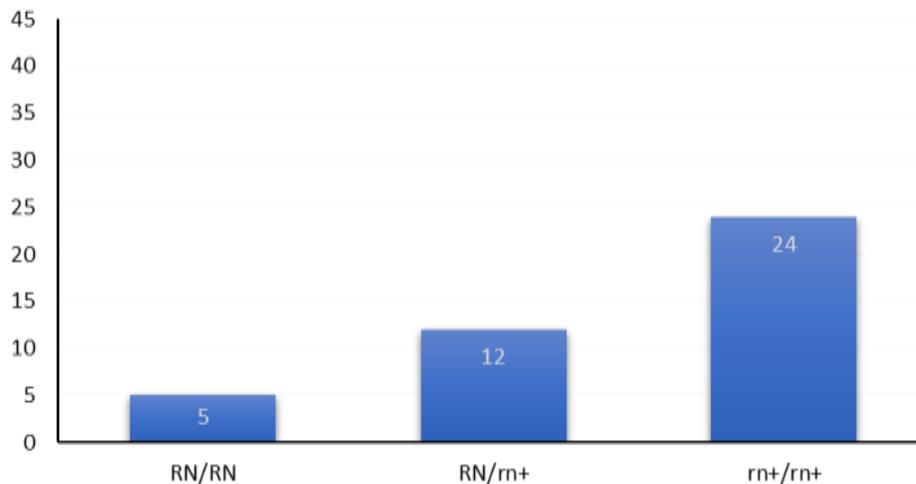


Gráfico 2: Número de genotipos para el marcador Rendimiento Napole. Homocigota dominante (RN⁻ RN⁻), heterocigota (RN⁻rn⁺) y homocigota recesivo (rn⁺ rn⁺). El número de genotipos analizados fue 5, 12 y 24, respectivamente

FRECUENCIAS GENOTÍPICAS

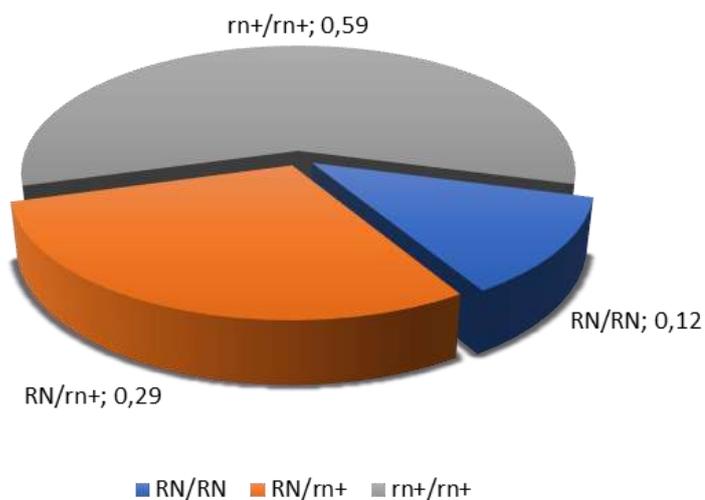


Gráfico 3: Frecuencia genotípica para el marcador molecular Rendimiento Napole de las muestras analizadas de cerdos criollos costeros. Observándose la mayor frecuencia para el genotipo homocigota recesivo favorable.

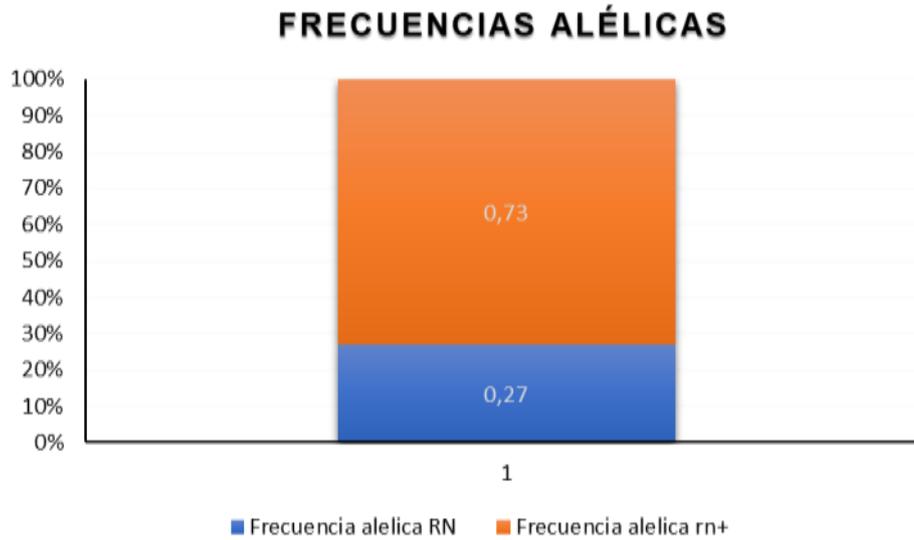


Gráfico 4: Frecuencia alélica de los alelos dominante (RN) y recesivo (rn⁺) de las muestras analizadas de cerdos criollos costeros.

6.1.3. H-FABP3

El fragmento amplificado por PCR posee 816 pb y en su secuencia hay cuatro sitios de corte para la enzima de restricción *HaeIII*. Los alelos se indicaron con las letras D y d, respectivamente. Donde el alelo d se define por la presencia de 4 fragmentos con longitudes de 405, 278, 117 y 16 pb. El alelo D, posee un polimorfismo generado por una mutación puntual que sustituye una G por una C, provocando la pérdida de un sitio de corte para la enzima y fusionando los fragmentos 405 y 278 generando uno nuevo de 683 pb. Por lo tanto, dicho alelo genera 3 fragmentos de 683, 117 y 16 pb (Figura 8) (Gerbens *et al.*, 1997).

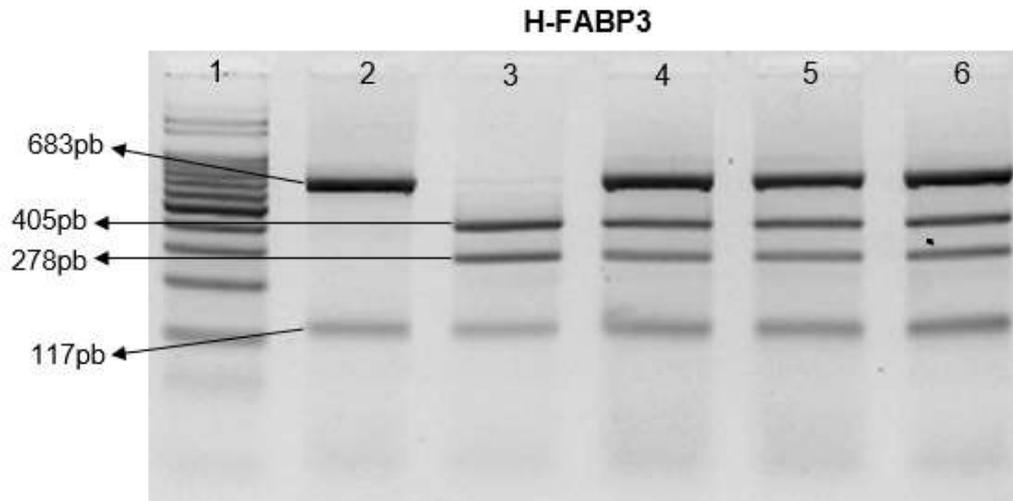


Figura 8: Electroforesis en gel de agarosa 2%. Se observan los fragmentos luego de la digestión con la enzima *HaeIII*. Calle 2: homocigota dominante, fragmentos de 683 pb y 117 pb correspondiente al alelo D. Calle 3: homocigota recesivo, fragmentos de 405, 278 y 117 pb, correspondiente al alelo d. Calles 4, 5 y 6: heterocigotas, fragmentos de 638, 405, 278 y 117 pb. Calle 1: marcador molecular de 100pb.

De las 41 muestras analizadas 21 individuos presentaron el genotipo DD, 16 individuos presentaron genotipo Dd y 4 individuos presentaron el genotipo dd (Gráfico 5). Se determinó que las frecuencias genotípicas de los individuos homocigota dominante, heterocigota y homocigota recesivos fue de 0,51, 0,39 y 0,10, respectivamente (Gráfico 6) y que la frecuencia alélica de D fue 0,71 y la frecuencia alélica de d fue 0,29 (Gráfico 7).

NÚMERO DE GENOTIPOS

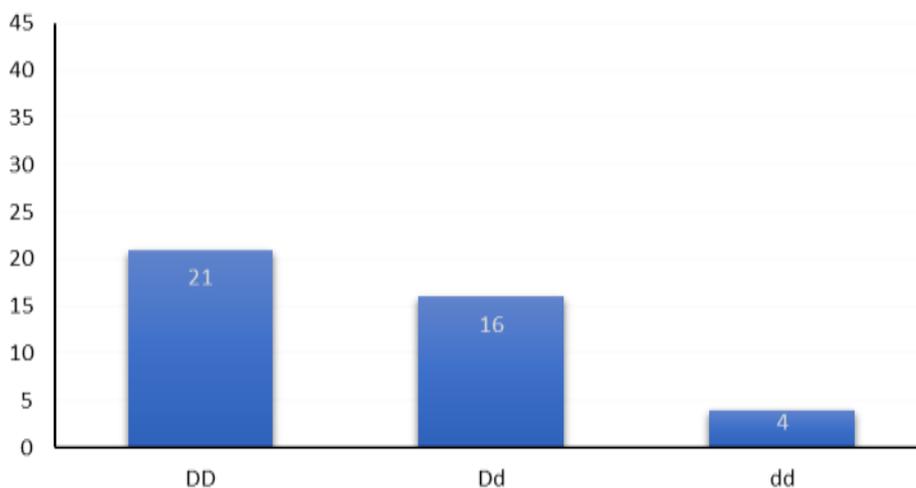


Gráfico 5: Número de genotipos correspondiente al marcador molecular H-FABP3. El mayor número de individuos analizados posee el genotipo homocigota dominante DD.

FRECUENCIAS GENOTÍPICAS

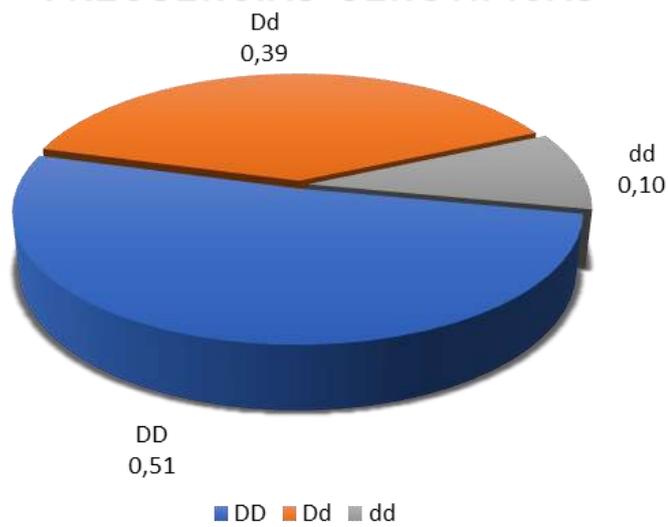


Gráfico 6: Frecuencias genotípicas del marcador molecular H-FABP3. Se observó mayor frecuencia para los genotipos DD.

FRECUENCIAS ALÉLICAS

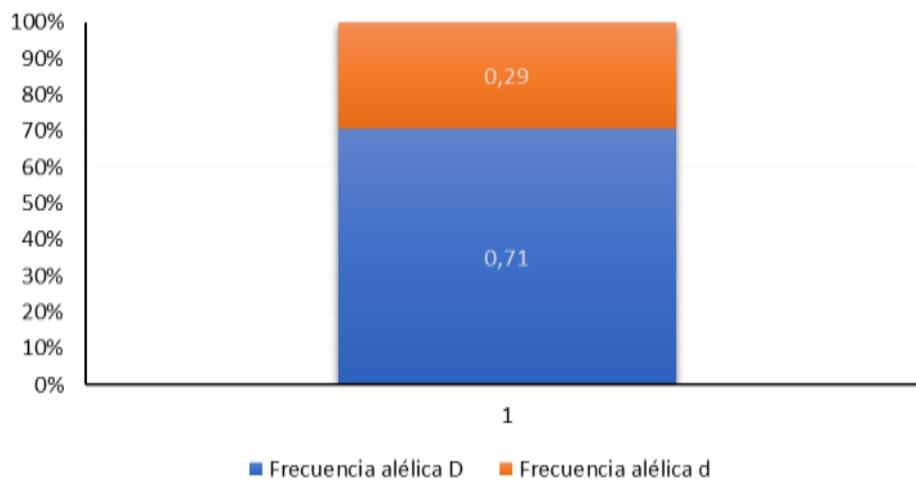


Gráfico 7: Frecuencias alélicas de los alelos dominante D y recesivo d en cerdos criollos costeros.

6.1.4. MC4R

Un fragmento de 226 pb se generó por la amplificación mediante PCR conteniendo el polimorfismo en el sitio de corte para la enzima de restricción *TaqI*. Luego de la digestión enzimática se pudo observar que la presencia del alelo con el nucleótido G generó dos bandas, una de 156 pb y otra de 70 pb. El alelo con la sustitución de A en lugar de G, arrojó una sola banda de 226 pb, esto se produjo por la pérdida del sitio de reconocimiento para la enzima de restricción (Figura 9).

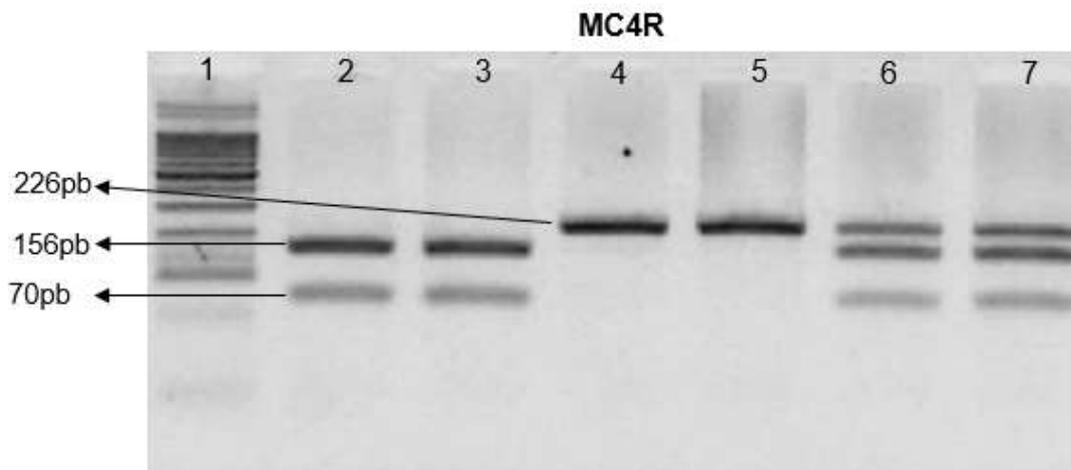


Figura 9: Electroforesis en gel de agarosa 2%. Se observan los fragmentos luego de la digestión con la enzima *TaqI*. Calle 2 y 3: homocigota para el alelo G, fragmentos de 156 y 70 pb. Calle 4 y 5: homocigota para el alelo A, fragmento de 226 pb. Calles 6 y 7: heterocigotas, fragmentos de 226, 156 y 70 pb. Calle 1: marcador molecular de 100pb.

El receptor de melanocortina 4 también presentó variabilidad en las muestras analizadas de cerdos criollos costeros. Se determinó que 3 individuos presentaron el genotipo homocigota para el alelo WT que contiene G, 16 individuos fueron homocigotas para el alelo mutante que contiene A y 22 individuos fueron heterocigotas con una frecuencia genotípica de 0,07, 0,39 y 0,54, respectivamente (Gráfico 8 y 9). La frecuencia alélica fue de 0,66 para A y 0,34 para G (Gráfico 10).

NÚMERO DE GENOTIPOS

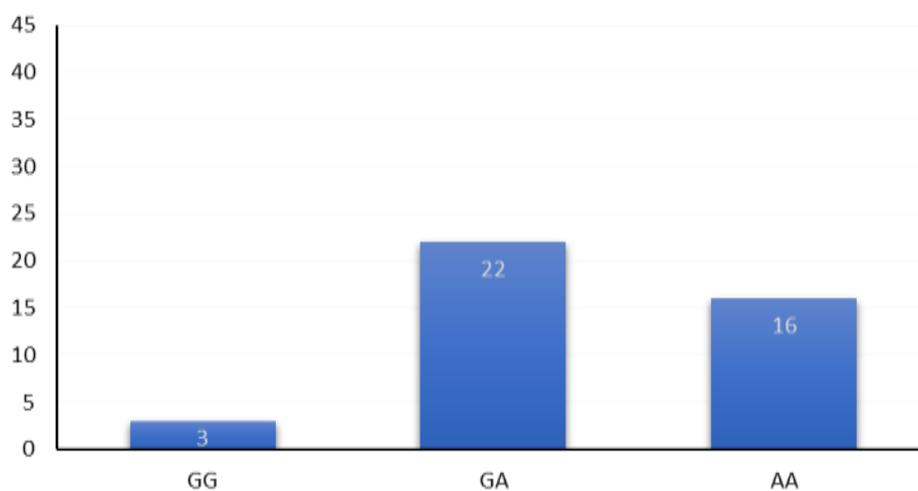


Gráfico 8: Número de genotipos para el marcador molecular MC4R. Observándose una mayoría de genotipos heterocigotas.

FRECUENCIAS GENOTÍPICAS

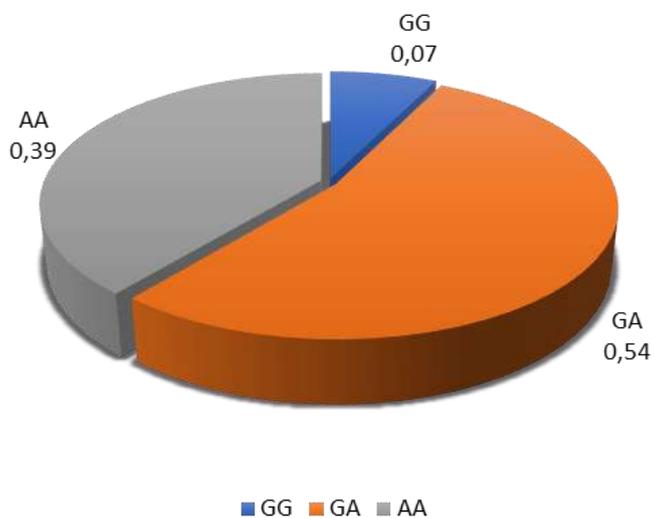


Gráfico 9: Frecuencias genotípicas del marcador molecular MC4R de cerdos criollos costeros de la Bahía de Samborombón.

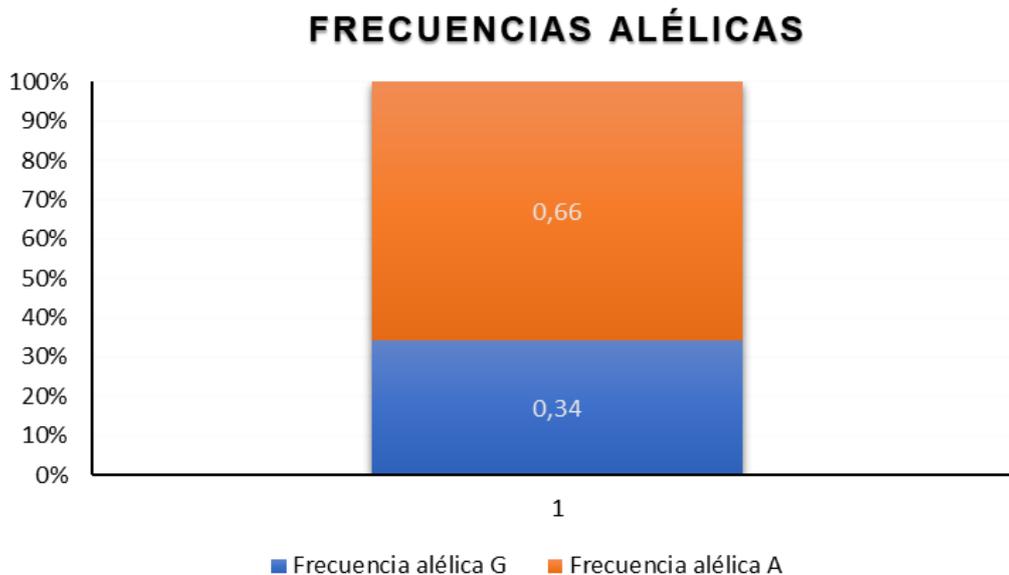


Gráfico 10: Frecuencia alélica del marcador molecular MC4R. Se observó mayor frecuencia para el alelo A

7. DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinó la variabilidad existente de cuatro marcadores moleculares asociados a calidad de carne en cerdos criollos costeros de la Bahía de Samborombón. Estos marcadores fueron ampliamente estudiados en diferentes razas porcinas sujetas a selección artificial altamente demandadas en el mercado porcino. Solo unos pocos estudios se realizaron en cerdos criollos, poniendo de manifiesto la poca importancia que a estos se les da.

En Argentina, aún no se han caracterizado las poblaciones de cerdos criollos con marcadores moleculares asociados a calidad de carne, siendo este el primer análisis de estas características. Mientras que en distintos países de Latinoamérica ya se registran estudios de caracterización molecular en cerdos criollos (González Sarabia, 2011; Pardo Saray, 2016), como también los hay en cerdo ibérico y jabalí europeo (Padilla *et al.*, 2010).

Con respecto al gen Halotano, los cerdos criollos costeros no presentaron el alelo desfavorable (n) del gen Halotano, obteniendo todos genotipos homocigotas dominantes (NN). Este resultado coincide con otros estudios realizados en poblaciones de cerdos

criollos de América Latina (Rodríguez, 2004; Hernández *et al.*, 2008; González Sarabia, 2011). En cerdos criollos de Colombia (Hernández *et al.*, 2008), se encontraron casos Halotano positivos y portadores del gen desfavorable recesivo, este resultado se atribuyó al cruce de estos cerdos con razas comerciales de establecimientos de productores porcinos.

El alelo con la mutación recesiva desfavorable se originó en las razas Pietrain y Landrace Belga producto de una intensa selección, donde los genotipos Halotanos positivos muestran una gran incidencia en estas poblaciones en comparación con otras razas (Webb, 1982). Los productores locales de la región que utilizan cerdos criollos costeros de la Bahía de Samborombón son de escasos recursos y cuentan con instalaciones precarias. Posiblemente no tienen en sus plantales cerdos de razas comerciales como la Pietrain o Landrace Belga ya que estas razas son más costosas y requieren de instalaciones sofisticadas para su manejo. Esto descarta la posibilidad de una posible introgresión de la mutación recesiva del gen Halotano a la población de cerdos criollos costeros. Además, las condiciones ambientales desfavorables en las que se desenvuelve el cerdo criollo costero son incompatibles con el PSS causado por esta mutación, lo que provocaría selección natural contra individuos positivos. Por lo tanto, en cuanto a este gen la población de cerdos criollos costeros tiene una ventaja en comparación con los cerdos domésticos de los criadores. Pudiendo en el futuro ampliar esos análisis con vistas a la utilización de carne en sus diversos modos.

El marcador molecular Rendimiento Napole, provoca la condición de carne acida en presencia del alelo con la mutación dominante RN⁻ en su forma homocigota. Esta condición solo se observa en poblaciones de cerdos que tengan algún componente genético de la raza Hampshire o en poblaciones con ascendencia Hampshire (Miller, 2000). Pocos estudios se han realizado en relación a este marcador molecular en cerdos criollos de América Latina. Tres razas de cerdo criollo colombiano no presentaron el alelo RN⁻ en ninguno de los ejemplares muestreados (Pardo Saray, 2016). Por otro lado, González Sarabia (2011) obtuvo variabilidad en el marcador rendimiento Napole en genotipos de cerdos criollos mexicanos. Inesperadamente, el cerdo criollo costero también presentó variabilidad para el marcador molecular RN, observándose frecuencias alélicas similares.

Análisis filogenéticos de distintas poblaciones del cerdo pelón mexicano arrojan una relación genética con distintas razas modernas, incluyendo la raza Hampshire,

dependiendo de la zona de muestreo, demostrando que existe la interacción entre los cerdos criollos y las razas comerciales (Lemus y Alonso, 2005).

La raza Hampshire se introdujo en Argentina en el año 1918, siendo una de las razas más utilizadas junto con la raza Duroc (Vieites, 1997). Por lo tanto, la presencia del alelo RN en la población de cerdos criollos de la Bahía de Samborombón podría ser explicada por la introducción de razas modernas portadoras, como la Hampshire, o cerdos descendientes de esta raza en los establecimientos de producción porcina que tienen interacción con los cerdos criollos costeros silvestres.

El marcador MC4R mostró variabilidad presentando una mayor frecuencia del alelo A y la frecuencia de genotipos homocigotas fue mayor para AA. Estos datos se contraponen a los obtenidos en jabalí europeo y en cerdo Ibérico, donde predomina el alelo G (WT) y los genotipos homocigotas GG, incluso en las poblaciones de jabalí europeo el alelo A está ausente (Óvilo, 2006). Por lo general, altas frecuencias del alelo A se encuentran en las razas comerciales las cuales han sido seleccionadas a favor de una mayor velocidad de crecimiento y consumo de alimento.

En otras razas criollas de América latina también se detectó presencia del alelo A, probablemente por cruces con razas modernas. De todos modos, se sugiere explotar la ventaja de este alelo deseado en cerdos criollos (González Sarabia, 2011; Pardo Saray, 2016). Por lo tanto, la existencia de variabilidad para este marcador molecular asociado a calidad de carne en el cerdo criollo costero plantea un aspecto provechoso a tener en cuenta.

Con respecto al marcador molecular H-FABP3, se observó una mayor frecuencia del genotipo homocigota DD, con respecto al heterocigota y al homocigota dd. Consecuentemente, la frecuencia del alelo D (que posee Citosina) es superior al alelo d (posee Guanina). Caso similar sucede en el cerdo criollo San Pedreño de Colombia, observándose frecuencias alélicas parecidas, pero sin presencia de genotipos dd. Contrariamente, en otras dos razas de cerdos criollos colombianos (Casco de Mula y Zungo) se obtuvo mayor frecuencia alélica para d (Pardo Saray, 2016).

Por otro lado, en jabalí europeo se obtuvo una frecuencia alélica de 0.965 para d y en el cerdo ibérico una frecuencia de 0,204 para el mismo alelo, observándose una frecuencia de D (0,796) similar al cerdo criollo costero. En la raza Duroc, el alelo d se lo asocia a un alto contenido de grasa intramuscular, mayor espesor del tocino dorsal y mayor peso

corporal, encontrándose en mayor frecuencia que D (Padilla *et al.*, 2010). Este marcador vario su frecuencia entre las distintas poblaciones de cerdos estudiadas. Por lo tanto, su introgresión a la población de cerdos criollos costeros pudo darse por cruces con razas comerciales o por ascendencia.

Estos trabajos demuestran la gran variabilidad existente de los marcadores moleculares asociado a calidad de carne en las diferentes poblaciones de cerdos. Que también exista variabilidad en el cerdo criollo costero es un aspecto positivo a tener en cuenta para su utilización como recurso genético.

Si bien las propiedades fisicoquímicas de los cerdos criollos costeros de la Bahía de Samborombón aún no han sido evaluadas, en este trabajo se utilizaron marcadores moleculares que ya fueron relacionados a diferentes características que influyen en la calidad de la carne en una gran variedad de razas.

En cuanto al gen Halotano, la ausencia del alelo n nos permite asegurar que los cerdos criollos costeros no presentan el síndrome PSS ni la carne PSE, siendo esto muy importante en términos económicos y en la posible introducción de estos ejemplares en sistemas de producción porcino.

El alelo mutante RN⁻ en su forma homocigota conduce a una caída del rendimiento y calidad en la producción de embutidos (Milan *et al.*, 2000). Los cerdos criollos costeros son utilizados mayoritariamente para el consumo de estos productos procesados. Por lo tanto, sería importante que los ejemplares utilizados no sean animales RN⁻RN⁻. Esto se podría lograr seleccionando los genotipos rn⁺rn⁺ en los establecimientos donde se lleve a cabo la producción de embutidos. Para esto es necesario formar un centro genético porcino local donde se caracterice al cerdo criollo costero y generar reproductores evaluados genéticamente.

En las razas de cerdos en las que se analizó el marcador MC4R se halló una relación entre el espesor de grasa dorsal, el crecimiento y el consumo de alimentos al alelo A.

Situación semejante se observó para el marcador H-FABP3, el cual está relacionado a deposición de grasa intramuscular, siendo mayor para el genotipo dd.

Debido a que el cerdo criollo costero presenta los distintos polimorfismos de los marcadores moleculares analizados, estos se pueden combinar en un posible programa de mejora y generar variedades locales que se ajusten a los requerimientos de calidad de carne en beneficio de sus consumidores y productores.

En las regiones en desarrollo de países latinoamericanos las iniciativas orientadas a promover la sustentabilidad agropecuaria son recientes y los enfoques de las políticas de promoción y desarrollo sustentable deberían estar basados en una agricultura que promueva la biodiversidad y provoque el mínimo impacto ambiental posible (FAO. 2010). Numerosas familias de países subdesarrollados o en desarrollo dependen directamente de la biodiversidad del ecosistema para satisfacer parte o la totalidad de sus necesidades diarias, constituyendo los recursos genéticos animales un componente vital de esa biodiversidad.

Los cerdos criollos costeros mantienen su variabilidad genética al no estar sujetos a selección artificial. Por eso es importante establecer métodos de conservación de la variabilidad genética existente para evitar la erosión génica de este recurso como sucedió en el cerdo criollo de cuba, hoy más cercanos a la raza Hampshire que al cerdo Ibérico (Martínez *et al.*, 2005)

Los cerdos criollos costeros poseen determinantes genéticos de calidad de carne, ciertas habilidades digestivas para consumir subproductos fibrosos y tolerancia a condiciones adversas; estas poblaciones pueden representar recursos genéticos valiosos para la creación de razas sintéticas, o como punto de partida para la selección de razas autóctonas mejoradas, teniendo importantes repercusiones comerciales en la biotecnología animal, ya que estudios genéticos en cerdos comerciales indican que se ha ejercido una presión de selección muy intensa, de forma que la variabilidad genética en poblaciones comerciales se ha reducido notablemente (Fujii *et al.*, 1991).

Presentar un producto uniforme en el mercado es un requisito importante para su comercialización, se hacen necesarios mayores estudios de los diferentes cerdos criollos, así como de los recursos locales que mejoren la eficiencia en su utilización; tal como se ha hecho con los cerdos ibéricos y otras especies criollas. La elaboración de productos cárnicos diferenciados con mayor valor agregado, podría significar mejoras económicas en las sociedades que los producen, la mayoría de ellas rurales.

8. CONCLUSIÓN

La caracterización del cerdo criollo costero mediante marcadores moleculares asociados a calidad de carne por la técnica RFLP-PCR, permitió detectar variabilidad genética en los genes PRKAG3, MC4R y H-FABP3. El gen RYR1 solo presentó el alelo favorable, descartando la posibilidad de las carnes PSE y del síndrome de estrés porcino.

Esta variabilidad es importante debido a las distintas alternativas que ofrece el cerdo criollo costero para generar carnes de calidad para su consumo.

Es necesario continuar con la caracterización de los cerdos criollos costeros y establecer un plan de conservación para evitar la pérdida de variabilidad genética debido a la introducción de razas comerciales.

Explotar la variabilidad existente mediante un programa de mejora genética, producir y promover una variedad local para los productores porcinos de los partidos relacionados a la Bahía de Samborombón generaría un nuevo recurso económico aumentando su calidad de vida.

Más estudios con marcadores moleculares deberían realizarse en las distintas poblaciones de cerdos criollos de Argentina para explorar su variabilidad genética relacionada a calidad de carne para futuros programas de conservación y utilización como recursos genéticos.

9. BIBLIOGRAFIA

- Acosta, D., Figueroa, C., Fernández, G., Carpinetti, B., Merino, M. 2017. Aproximación sobre el origen filogenético de poblaciones de cerdos ferales en el área de Bahía Samborombón (Buenos Aires). XXX Jornadas Argentinas de Mastozoología. Bahía Blanca. Disponible en: www.sarem.org.ar/wp-content/uploads/2017/11/SAREM_Resumenes-XXX-JAM_2017.pdf, Pp. 167.
- Benítez Ortiz W., Sánchez M. D. 2001. Los cerdos locales en los sistemas tradicionales de producción. FAO. Roma. 208pp.
- Bonelli, A. M. y Schifferli, R. C. 2001. Síndrome Estrés Porcino. Arch. med. vet. 33(2): 125-135.
- Calvo, J. H., Osta, R., Garcia-Muro, E., Zaragoza, P. 1997. Síndrome de estrés porcino: aplicación y ventajas de la PCR para su diagnóstico. Med. Vet.,14(2): 110-113
- Cardiel, P. J. 1930. Diario del Viaje y Misión al Río del Sauce realizado en 1748. Imprenta Coni, Buenos Aires.
- Carpinetti, B., Di Guirolamo, G., Delgado, J.V., Martínez, R.D. 2016a. El Cerdo Criollo Costero: Valioso recurso zoogenético local de la provincia de Buenos Aires Argentina. Sitio Argentino de Producción Animal. Arch. Zootec., 65(251):403-407.
- Carpinetti, B., Castresana, G., Rojas, P., Grant, J., Marcos, A., Monterubbianesi, M., Sanguinetti, H., Serena, M., Echeverría, M.G., Garciarena, M., Aleksa, A. 2016b. Determinación de anticuerpos contra patógenos virales y bacterianos seleccionados en la población de cerdos silvestres (*Sus scrofa*) de la Reserva Natural Bahía Samborombón, Argentina. Analecta Vet. 37(1): 5-11.
- De Vries, A.G., Sosnicki, A., Plastow, G. 1999. Aplicación de nuevas tecnologías para la selección de carne de cerdo de calidad. ANAPROC, 202: 19-24.

- FAO. 2010. La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura, editado por Barbara Rischkowsky y Dafydd Pilling. Roma (disponible en <http://www.fao.org/docrep/011/a1250s/a1250s00.htm>) (traducción de la versión original en inglés, 2007).
- Fernández, X. and Monin, G. 1994. A major gene affecting pork quality: The RN gene. *Meat Focus International journal*, 3(8): 332-334.
- Figuroa, C. 2014. Variabilidad genética en los plantales de los pequeños productores porcinos del Noroeste de la provincia de Buenos Aires. Trabajo de grado de la Licenciatura en Genética. Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales. Universidad Nacional del Noroeste. Buenos Aires.
- Freitas, A. B. y Rosado, M. M. 2014. A introdução dos suínos no Brasil. Pp. 39-53. En Olimpia Lima Silva Filha, Salvador. Las razas porcinas Iberoamericanas: un enfoque etnozootécnico. Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano (IF Baiano). 416 pp.
- Fujii, J., Otsu, K., Zorzato, F., De Leon, S., Khanna, V.K., Weiler, J.E., O'Brien, P. J., Maclennan, D.H. 1991. Identification of mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hiperthermia. *Science*. 253: 448-451.
- Gariépy, C., Godbout, D., Riendeau, L., Houde, A. 1997. Effect of RN– gene on cooking yield of pork in a model system in presence of phosphate. *Proceedings of the 45th International congress of meat science technology*, abstract D1-17. Auckland, New Zealand.
- Gerbens, F., Rettenberger, G., Lenstra, J.A., Veerkamp, J.H., te Pas, M.F. 1997. Characterization, chromosomal localization, and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gene. *Mamm Genome*. 8(5):328-332.
- Gerbens, F., Van Erp, A.J., Harders, F.L., Verburg, F.J., Meuwissen, T.H., Veerkamp, J.H., te Pas, M.F. 1999. Effect of genetic variants of the heart fatty acid-binding

protein gene on intramuscular fat and performance traits in pigs. *J Anim Sci.* 77(4):846-852.

Gerbens, F., de Koning, D.J., Harders, F.L., Meuwissen, T.H., Janss, L.L., Groenen, M.A., Veerkamp, J.H., Van Arendonk, J.A., te Pas, M.F. 2000. The effect of adipocyte and heart fatty acid-binding protein genes on intramuscular fat and backfat content in Meishan crossbred pigs. *J Anim Sci.* 78(3):552-559.

Giberti, H. C. E. 1985. *Historia económica de la ganadería argentina.* Hyspamérica. Buenos Aires. 275 pp.

Glatz, J.F., Schaap, F.G., Binas, B., Bonen, A., Van Der Vusse, G.J., Luiken, J.J. 2003. Cytoplasmic fatty acid-binding protein facilitates fatty acid utilization by skeletal muscle. *Physiol Scand* 178:367–371.

González Sarabia, A.A., Lemus Flores, C., Mejía Martínez, K., Rodríguez Carpena, J.G., Orozco Benítez, M.G., Barreras Serrano, A. 2011. Diversidad genética en cerdos criollos mexicanos con genes candidatos asociados a características productivas. *Pesq. agropec. bras., Brasília,* 46(1):44-50.

Hernández, D. Y., Terranova, A. M. P., Muñoz Flórez, J. E. 2008. Detección de una mutación puntual en el gen receptor Ryanodina (Ryr 1) en cerdos criollos colombianos. *Acta Agron (Palmira).* 57(4):275-278.

Iriart, N.R. 1997. Evolución histórica de la pampa deprimida. En: Berbeglia, C.E. (coord.) *Propuestas para una antropología argentina IV.* Editorial Biblos, Buenos Aires. pp. 351-368.

Justo, L. R. M. 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

- Kim, K.S., Larsen, N.J., Rothschild, M.F. 2000a. Rapid communication: linkage and physical mapping of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene. *J Anim Sci.* 78:791–792.
- Kim K. S., Larsen, N., Short, T., Plastow, G., Rothschild, M. F. 2000b. A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits. *Mammalian Genome*, 11:131-135.
- Kim, K.S., Reecy, J.M., Hsu, W.H., Anderson, L.L., Rothschild, M.F. 2004. Functional and phylogenetic analyses of a melanocortin-4 receptor mutation in domestic pigs. *Domestic Animal Endocrinology.* 26:75–86.
- Lefaucheur, L. 2001. Myofiber typing and pig meat production. *Slov. Vet. Res.* 38(1): 5-33.
- Le Roy, P., Naveau, J., Elsen, J.M., Sellier, P. 1990. Evidence for a new major gene influencing meat quality in pigs. *Genet Res.* 55(1):33-40.
- Lemus, C. y Alonso, M.L. 2005. *El cerdo Pelón Mexicano y otros cerdos criollos.* 1° Ed. Universidad Autónoma de Nayarit. México, Editorial: Universitaria. 251p
- Lever, C. 1985. *Naturalized mammals of the world.* Longman. London, New York. 487p.
- Li, X., Kim, S.W., Choi, J.S., Lee, Y.M., Lee, C.K., Choi, B.H., Kim, T.H., Choi, Y.I., Kim, J.J., Kim, K.S. 2010. Investigation of porcine FABP3 and LEPR gene polymorphisms and mRNA expression for variation in intramuscular fat content. *Mol Biol Rep* 37:3931-3939.
- Martínez, A.M.; Pérez-Pineda, E.; Vega-Pla, J.L.; Barba, C.; Velázquez, F.J.; Delgado, J.V. 2005. Caracterización Genética del Cerdo Criollo Cubano con Microsatélites. *Revista Archivos de Zootecnia* 54:369-375.

- Martínez-Quintana, J., Alarcón-Rojo, A., Ortega-Gutiérrez, J., Janacua-Vidales, H. 2006. Incidencia de los genes halotano y rendimiento napole y su efecto en la calidad de la carne de cerdo. *Universidad y Ciencia: tropico humedo*, 22(2): 131-139.
- Merino, M. y Carpinetti, B. 2003. Feral pig *Sus scrofa* population estimates in Bahía Samborombón conservation area, Buenos Aires province, Argentina. *Mastozool Neotrop.* 10(2): 269-275.
- Milan, D., Woloszyn, N., Yerle, M., Le Roy, P., Bonnet, M., Riquet, J., Lahbib Mansais, Y., Caritez, J.C., Robic, A., Sellier, P., Elsen, J.M., Gellin, J. 1996. Accurate mapping of the "acid meat" RN gene on genetic and physical maps of pig chromosome 15. *Mamm Genome.* 7(1):47-51.
- Milan, D., Jeon, J., Looft, C., Amarger, V., Robic, A., Thelander, M., Rogel Gaillard, C., Paul, S., Iannuccelli, N., Rask, L., Roone, H., Lundstrom, K., Reinsch, N., Gellin, J., Kalm, E., Le Roy, P., Chardon, P. and Andersson, L. 2000. A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Science.* 288: 1248–1251.
- Miller, K. D., Ellis, M., McKeith, F. K., Bidner, B. S., Meisinger, D. J. 2000. Frequency of the Rendement Napole RN- allele in a population of American Hampshire pigs. *J ANIM SCI*; 78:1811-1815.
- MINAGRI - Ministerio de Agroindustria. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Área Porcinos. 2017. Caracterización nacional del sector porcino. En Anuario 2017. Pp 6-9.
- Monin, G. y Sellier P. 1985. Pork of low technological quality with a normal rate of muscle pH fall in the immediate post-Mortem period: the case of the Hampshire breed. *Meat Science* 13: 49-63.
- Morris, I. 1742. "Una narración fiel de los peligro y desventuras que sobrellevó Isaac Morris", en Milciades Vignati. *Viajeros, obras y documentos para el estudio del hombre americano*, Buenos Aires, Coni, (1956 [1742]).

- Naveau, J., Pommeret, P. and Lechaux, P. 1985 Proposition d'une méthode de mesure du rendement technologique: La méthode Napole. *Techni-Porc*, 8: 7-13.
- Naveau, J. 1986. Contribution á l'étude du déterminisme genetique de la qualité de la viande porcine. *Porcine en France*, 18: 265-276.
- O'Brien, P.J. 1995. The causative mutation for porcine stress syndrome. *Food Animal*. 257-269.
- Óvilo, C., Fernández, A., De Pedro, E., García-Casco, J., Rodríguez, C., Silió, L. 2006. Asociación de una mutación no sinónima del gen MC4R con el crecimiento y rendimiento de piezas nobles en cerdos ibéricos. *ITEA*, 102:79- 85.
- Padilla, J., Portilla, F., Salazar, J., Parejo, J., Martínez, M., Rabasco, A., Sansinforiano, M.E., Corral, J.M., Izquierdo, M., Hernández, F. 2010. Detección múltiple de SNPs relacionados con crecimiento y calidad de carne en porcino. *Archivos de Zootecnia*, 59(226), 233-244.
- Patiño, V.M. 1970. Plantas cultivadas y animales domésticos en América equinoccial. Tomo IV: plantas introducidas. Cali. Imprenta Departamental, Cali, Colombia. pp. 295-317.
- Pardo Saray, C.A. 2016. Evaluación de la calidad de la carne y caracterización de genes asociados a la calidad de tres razas de cerdos criollos colombianos. Tesis de Mag. en Cs. y Tec. de los alimentos. Medellín, Colombia, UNC. 133p.
- Pérez Carusi, L.C., Beade, M.S., Miñarro, F., Vila, A.R., Giménez- Dixon, M., Bilenca, D.N. 2009. Relaciones espaciales y numéricas entre venados de las pampas (*Ozotoceros bezo articus celer*) y chanchos cimarrones (*Sus scrofa*) en el Refugio de Vida Silvestre Bahía Samborombón, Argentina. *Ecol Austral*, 19: 63-71.

- Rodríguez, C. J. G. 2004. Crecimiento y Calidad de la Canal en Cerdo Pelón Mexicano y Cruzas con Razas Comerciales. Tesis de Maestría. FMVZ, Universidad Autónoma de Nayarit.
- Sánchez Labrador, J. [1767] 1936. Los indios pampas, puelches, patagones. Buenos Aires, Viau y Zona.
- Storch J. and Thumser, A.E.A. 2000. The fatty acid transport function of fatty acid-binding proteins. *Biochimica et Biophysica*. 1486: 28-44.
- Vieites, C. 1998. Producción porcina: estrategias para una actividad sustentable. Buenos Aires, hemisferio sur. 505p.
- Volpato, G. G. (2017) Estudio de caso: la valoración del humedal de la bahía de Samborombón: un enfoque desde el desarrollo local. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de San Martín. Escuela de Política y Gobierno; Universidad Autónoma de Madrid (España), Disponible en el Repositorio Institucional de la UNSAM (TMAG EPYG 2017 VGG): <https://bit.ly/2Q4LMQm> [Fecha de consulta: 08/03/2019]
- Webb, A. J., Carden, A. E., Smith, C., Imlah, P. 1982. Porcine stress syndrome in pig breeding. *Proc. 2nd World Congress on Genetics Applied to Livestock Production Madrid, Spain*. 5: 588-608.