



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**



CENTRO MULTIDISCIPLINARIO DE ESTUDIOS EN BIOTECNOLOGÍA

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Análisis de diversidad genética del cerdo pelón mexicano mediante
marcadores mitocondriales**

TESIS

QUE PRESENTA

MVZ. MARCO TULIO MONROY MARTÍNEZ

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS EN LA
OPCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA PECUARIA**

ASESORA:

DRA. MARÍA GUADALUPE ZAVALA PÁRAMO

Co-ASESOR:

DR. JOSÉ HERRERA CAMACHO

Morelia, Michoacán. Febrero de 2020.



CONTENIDO

	Página
I Resumen	1
II Summary	2
III Introducción	3
IV Antecedentes	4
4.1 Recursos zoogenéticos	4
4.2 Origen y situación actual del cerdo domesticado	5
4.3 Cerdo pelón mexicano	7
4.4 Marcadores moleculares	9
4.5 Marcadores de ADN mitocondrial	10
V Hipótesis	13
VI Objetivos	14
VII Materiales y métodos	15
7.1 Material biológico	15
7.2 Extracción de ADN	16
7.3 Amplificación de ADN mitocondrial por PCR	17
7.4 Secuenciación y análisis de las secuencias	18
7.5 Diversidad y diferenciación genética	18
7.6 Análisis filogenéticos y genealógicos	19
VIII Resultados	20
8.1 Extracción de ADN y amplificación por PCR	20
8.2 Análisis de las secuencias	21
8.3 Análisis de diversidad y diferenciación genética	21
8.4 Redes de haplotipos Median-joining	26
8.5 Análisis filogenéticos del género <i>Sus</i>	30
8.6 Análisis genealógicos para la especie <i>Sus scrofa</i>	32
IX Discusión	39
X Perspectivas y/o recomendaciones	46
XI Conclusiones	47
XII Literatura citada	48

I. RESUMEN

El cerdo pelón mexicano es una variedad de cerdo domesticado (*Sus scrofa*). Los datos históricos reportan su origen en los cerdos domesticados introducidos durante la conquista española y se ha propuesto una estrecha relación genética con los cerdos ibéricos, aunque la identidad de sus linajes no está clara. En el presente trabajo se realizó una caracterización genética molecular de cerdo pelón mexicano a través de los marcadores moleculares Citocromo b (Cytb) y NADH deshidrogenasa 2 (ND2). Se realizaron análisis de diversidad y diferenciación genética, filogenia del género *Sus*, y las relaciones genealógicas de *Sus scrofa* a través de redes de haplotipos y árboles genealógicos bajo los criterios de Inferencia Bayesiana y Máxima Verosimilitud, donde se incluyeron las secuencias de variedades de cerdo domesticado y jabalíes reportados en bases de datos internacionales (NCBI). Los resultados mostraron que el cerdo pelón mexicano de Yucatán presenta alta diversidad genética. Los análisis genealógicos revelaron que la población de cerdo pelón analizada proviene de un linaje asiático y linajes europeos/asiáticos. En el linaje europeo/asiático del que proviene el cerdo pelón mexicano también se encuentra el cerdo Ibérico. Los cerdos domesticados y los jabalíes comparten haplotipos de varios linajes genéticos, dentro de una población grande y estable con una historia antigua. La domesticación de los cerdos ocurrió a partir de diferentes linajes de jabalí y probablemente en diferentes sitios en Asia.

Palabras clave: recursos zoogenéticos, cerdo pelón mexicano, ADN mitocondrial, conservación

II. SUMMARY

The hairless mexican pig is a variety of domesticated pig (*Sus scrofa*). Historical data report their origin in domesticated pigs introduced during the Spanish conquest and a close genetic relationship with Iberian pigs has been proposed, although the identity of their lineages is not clear. In the present work, a molecular genetic characterization of the hairless mexican pig was performed through the molecular markers Cytochrome b (Cytb) and NADH dehydrogenase 2 (ND2). Analyzes of diversity and genetic differentiation, phylogeny of the genus *Sus*, and genealogical relationships of *Sus scrofa* were carried out through haplotype networks and genealogical trees under the criteria of Bayesian Inference and Maximum Likelihood, the sequences of domesticated pigs and wild boars reported in international databases (NCBI) were included. The results showed that the hairless mexican pig from Yucatán presents high genetic diversity. The genealogical analyzes revealed that the population of hairless pigs analyzed comes from an Asian lineage and European/Asian lineages. In the European/Asian lineage from which the hairless mexican pig comes, the Iberian pig is also found. Domesticated pigs and wild boars share haplotypes of several genetic lineages, within a large and stable population with an ancient history. The domestication of pigs occurred from different boar lineages and probably in different places in Asia.

Key words: zoogenetic resources, hairless mexican pig, mitochondrial DNA, conservation.

III. INTRODUCCIÓN

En México, la producción de cerdos domesticados en unidades de producción semi-tecnificadas y de traspatio representan un valor importante, en términos de recursos zoogenéticos que brindan proteína de origen animal de alto valor biológico y subsistencia económica para las comunidades rurales de escasos recursos.

Los recursos zoogenéticos son todas aquellas especies de animales que contribuyen a las necesidades humanas proporcionando carne, leche, productos lácteos, huevos, fibras, ropas, recursos para el alojamiento temporal y permanente, estiércol como fertilizante y combustible, fuerza de arrastre, ayuda para la casa y bienes comercializables contribuyendo a la seguridad alimentaria para las generaciones presentes y futuras (FAO, 2010; Salamanca *et al*, 2014).

La pérdida y erosión de los recursos zoogenéticos amenazan la seguridad alimentaria y los medios de vida sostenibles de las comunidades rurales, por lo que se deben aplicar medidas inmediatas para conservar, desarrollar, mejorar y utilizar de modo sostenible los recursos zoogenéticos, con la finalidad de asegurar recursos genéticos para las generaciones futuras (FAO, 2010). Se considera que las razas o variedades de animales domesticados en el mundo se encuentran en peligro de extinción, sobre todo las razas locales que se explotan de manera tradicional en zonas rurales.

El cerdo pelón mexicano (*Sus scrofa*) es un biotipo poco estudiado e infravalorado, considerado como una raza no seleccionada y sin atributos comerciales. Se ha propuesto que sus poblaciones han sufrido una reducción drástica, incrementando su erosión genética. Históricamente, se cree que el cerdo pelón se originó de los cerdos domesticados introducidos durante la conquista de México. Actualmente, representa una población criada en los traspatios de las comunidades rurales que se localizan en las costas del Golfo y Pacífico Mexicano.

Se ha propuesto que la tendencia actual del cerdo pelón mexicano es regresiva (Lemus *et al*, 2001), sin embargo, no se conocen valores de diversidad genética ni las relaciones genéticas dentro de las poblaciones y con respecto a los linajes o variedades de cerdos domésticos y con los de los jabalíes dentro de la especie *Sus scrofa*.

IV. ANTECEDENTES

4.1. Recursos zoogenéticos

Los recursos zoogenéticos son todas aquellas especies de animales domesticados que contribuyen a los medios de vida de más de 1000 millones de personas proporcionando carne, leche, productos lácteos, huevos, fibras, ropas, recursos para el alojamiento temporal y permanente, estiércol como fertilizante y combustible, fuerza de arrastre, ayuda para la casa y bienes comercializables (FAO, 2010). Tienen un valor y un papel esencial para la producción de alimentos y la agricultura, contribuyendo a la seguridad alimentaria para las generaciones presentes y futuras, además, satisfacen las necesidades de producción actuales y futuras que derivan de los cambios ambientales, para potenciar la resistencia a enfermedades y los parásitos y responder al constante cambio de la demanda de productos de origen animal (Cañon *et al.*, (2001); Fan *et al.*, (2002); Kelly *et al.*, 2004; Salamanca *et al.*, 2014). La ganadería aporta cerca del 30% de la producción interna bruta (PIB) en los países en desarrollo, con un previsto hasta el 39% para el 2030. Hablando específicamente, solo 14 de las más de 30 especies de animales domesticados proporcionan un 90% del suministro de alimento humano de origen animal (FAO, 2007).

Tras aproximadamente 12,000 años transcurridos desde la domesticación de las primeras especies ganaderas, los agricultores y pastores han desarrollado más de 7616 variedades o razas de recursos zoogenéticos en todo el mundo, de las cuales 6536 son locales y 1 080, transfronterizas. Un total de 1,491 razas, es decir alrededor del 20%, se clasifican como razas en peligro de extinción. La proporción de razas de mamíferos en peligro de extinción es del 16% (881 razas) y en el caso de las aves es de 30% (610 razas) (FAO, 2010). La diversidad biológica de los recursos zoogenéticos tiene importancia ambiental, genética, social, económica, médica, científica, educativa, cultural y espiritual y es esencial para satisfacer las necesidades humanas básicas de alimentos y medios de vida (Salamanca *et al.*, 2014).

A pesar de su enorme contribución potencial al desarrollo sostenible y a la reducción del hambre y la pobreza, los recursos zoogenéticos están infrautilizados e infraconservados. De las 7,600 razas notificadas a la FAO por sus estados miembros, más de 1,500 se encuentran en peligro de extinción o ya están extintas. Los sistemas de producción tradicionales (no tecnificados) cuentan con animales que, aunque menos productivos que las razas altamente seleccionadas y de elevada

rentabilidad, pueden contener características funcionales valiosas que, mediante el adecuado uso de insumos externos, se pueden lograr incrementos sorprendentes de productividad.

La erosión genética de los recursos zoogenéticos es un problema que preocupa en el ámbito nacional e internacional, y algunas razas de animales se encuentran en peligro de extinción. La falta de información dificulta la toma de decisiones con respecto a la conservación, desarrollo y utilización de los limitados fondos disponibles para la preservación de los recursos zoogenéticos. Una de las prioridades estratégicas para el cuidado de los recursos zoogenéticos es la conservación de la diversidad y la integridad génica (FAO, 2001). Hay muchas razones por las que la introducción de medidas de conservación para una variedad o razas determinada podría considerarse importante como: la singularidad génica, un grado de peligro elevado, rasgos de importancia económica o científica (rasgos funcionales únicos), así como su valor ecológico, histórico y cultural.

La conservación de los recursos zoogenéticos es una tarea multidisciplinaria que comprende todas las operaciones de orden técnico, político y logístico implicadas en comprender (caracterización), usar y desarrollar (utilización), mantener (conservación), acceder y compartir los beneficios de los recursos zoogenéticos» (FAO, 2001). En el ámbito de la investigación científica dirigida a rubros de caracterización y conservación se debe garantizar que los investigadores tengan acceso a un acervo genético variado para planes de mejoramiento genético e investigación científica a largo plazo.

4.2. Origen y situación actual del cerdo domesticado

El cerdo es un mamífero artiodáctilo perteneciente a la familia *Suidae* que comprende una serie de especies de gran interés biológico y valor económico. Los análisis filogeográficos indican que las especies del género *Sus* pueden ser clasificadas en tres grupos: 1) Animales relativamente primitivos de las Islas Filipinas (*S. cebifrons* y *S. philippensis*), y procedentes de la Islas Célebes y adyacentes (*S. celebensis*); 2) Razas Euroasiáticas silvestres (*S. scrofa* y *S. salvanius*); y 3) y otros cerdos (*S. barbatus* y *S. verrucosus*) (Randi, 1995; Randi *et al.*, 1996; Groves, 2005; Gui-sheng *et al.*, 2006 ; Mona *et al.*, 2007)

Los Suidos interactúan con las actividades humanas porque fueron domesticados, criados, cruzados, transportados, cazados, comidos y, en ciertos casos, venerados o perseguidos. Los jabalíes fueron presas importantes para los primeros cazadores-recolectores en amplias zonas

de Euroasia hasta el Holoceno temprano, cuando la relación presa-depredador cambió radicalmente a medida que estos animales fueron domesticados (Larson *et al.*, 2005). Algunos estudios paleontológicos ubican a los jabalíes en bosques y pantanos del continente Euroasiático hace unos 40 millones de años (Meléndez *et al.*, 2015).

El cerdo domesticado y el jabalí silvestre representan a la misma especie *Sus scrofa*. EL jabalí está distribuido por todo el mundo y su población actual es de casi cuatro millones, por lo que se considera la segunda especie de ungulado más abundante en Europa (Khedertzadeh *et al.*, 2019). Los cerdos tienen cabida en muchas culturas tradicionales y en la vida cotidiana de millones de seres humanos. La domesticación del cerdo se llevó a cabo de manera lenta y progresiva, se propone que los ejemplares de los primeros cerdos eran animales pequeños y comprendían hatos poco numerosos (FAO, 2010). De acuerdo a los resultados de estudios zooarqueológicos, la domesticación del cerdo inició hace alrededor de 9,000 años en Europa, Cercano y Medio Oriente, China, Subcontinente Indio y Asia sudoriental (Giuffra *et al.*, 2000; Kijas *et al.*, 2000; Jing *et al.*, 2002). Sin embargo, los estudios en genética molecular porcina de Larson y col. (2005) indican que el linaje basal del cerdo domesticado tuvo origen en el Sudeste Asiático y desde allí se dispersó a la India, posteriormente al este Asiático y finalmente la dispersión progresiva hacia Eurasia y Europa occidental.

Los conquistadores españoles en su llegada a América, transportaron todo tipo de animales domesticados, y los repartieron por todo el nuevo territorio. El cerdo llegó en primer lugar a Santo Domingo, Puerto Rico, Cuba y Jamaica, procedente de las Islas Canarias en el segundo viaje de Cristóbal Colón en 1493. (Rodero *et al.*, 1992; Meléndez *et al.*, 2015). Las expediciones a México se operaron por Hernández de Córdoba, Grijalba, Narváez y Hernán Cortez en el año 1527 introduciendo en ellos al cerdo europeo durante la conquista de Yucatán. (Moreno, 1996; Delgado *et al.*, 2004).

Se ha propuesto que una combinación de material genético europeo y asiático sentó la base para la aparición de las razas modernas de cerdos europeos (FAO, 2012). En 1945 se elaboraron programas de cría nacionales, regionales, y comerciales en Europa y América del Norte, se exportaron animales de raza pura para el cruce, como lo son: Hampshire, Duroc y Yorkshire de EUA a América Latina y Asia Sudoriental. (FAO, 2010). En el mundo hay alrededor de 1000 millones de cerdo, uno por cada siete personas. Aproximadamente dos terceras partes se encuentran en Asia, en su inmensa mayoría en China, con una presencia importante en Vietnam,

India y Filipinas. En Europa y el Cáucaso se encuentra una quinta parte, y en América un 15 %. Las razas de cerdo representan el 12 % del total de razas de mamíferos registradas en el mundo. En América Latina y el Caribe se encuentran 67 razas locales registradas, en América del Norte 18, y a nivel mundial 541 (FAO, 2010). Las regiones desarrolladas de América del Norte y Europa y el Cáucaso cuentan con las mayores densidades por habitante. En el caso de América Latina la densidad por habitante es un poco menor, resultando en 140 ejemplares de la especie por cada 1000 personas.

La producción de alimentos de origen animal (kg/persona/año), hablando específicamente de carne de cerdo, está liderada por Europa y el Cáucaso con 31 kg, en el caso de América Latina y el Caribe, se cuenta con una producción de 11 kg por persona al año (FAO, 2010). Hurtado (2006) manifiesta que además de las razas mejoradas se encuentran las razas criollas entre las cuales están: Zungo costeño, Casco de mula, Congo santandereano y Sampedreño en Colombia y Cuino, Pelón y Casco de mula en México.

4.3. Cerdo pelón mexicano

El cerdo pelón mexicano es un biotipo poco estudiado y poco valorado, se originó con los cerdos introducidos durante la conquista de México por lo que se encuentra en el país desde hace más de cuatro siglos (Lemus *et al.*, 2001). Se ha propuesto que cuatro razas porcinas dieron origen al cerdo pelón: Celtica, Ibérica, Napolitana y Asiática. Se supone que durante la colonización española se importó la variedad originaria del cerdo pelón desde la Península Ibérica y Asia, debido al comercio existente con Japón, China y Filipinas. Presumiblemente, las poblaciones actuales de cerdo pelón mexicano consisten en una mezcla de cerdos ibéricos y asiáticos (Flores y Agraz, 1981).

El cerdo pelón mexicano, es considerado como una raza no seleccionada y sin atributos comerciales (Canul *et al.*, 2005). En la actualidad ha ocurrido una drástica reducción en el número de cerdos criollos que supone una erosión genética. Entre las principales causas de erosión genética se encuentran la sustitución de razas, implementación de cruzamientos mal dirigidos y el manejo sin asesoría técnica (Sierra, 2000).

Actualmente, esta variedad representa poblaciones criadas en los traspatios de las comunidades rurales que se localizan en las costas del Golfo y Pacífico Mexicano (Sierra *et al.*, 2005). Las características fenotípicas más destacables del cerdo pelón son que poseen una piel de color

negro con escaso pelo en el cuerpo, orejas rectas tipo asiático e ibérico y perfil cefálico recto y subcóncavo (Pérez *et al.*, 2105; Velázquez *et al.*, 2016). Algunas de sus ventajas son que posee la capacidad de adaptación al medio, ejerce poca o nula destrucción al ambiente y es capaz de aprovechar alimentos naturales de la región (Cen *et al.*, 2011).

México enfrenta un creciente déficit en la producción de alimentos de origen porcino indispensables para el desarrollo de la población, por lo que tiene que importar grandes volúmenes de carne a muy altos costos, lo que trae como consecuencia un consumo *per capita* demasiado bajo por parte de las poblaciones rurales. En la actualidad prevalecen tendencias en la producción animal, que tienen relación con los sistemas de producción sostenibles con animales domesticados, aprovechamiento integral de los recursos naturales y producción de productos ecológicos, todo ello como protección al medio ambiente. En dicho escenario el cerdo pelón mexicano cobra importancia y puede ser protagonista de producción, ya que es una raza explotada en sistemas tradicionales (Sierra, 2000; Scarpa *et al.*, 2003; Anderson *et al.*, 2003;). Debido a la importancia del cerdo pelón mexicano, ha sido objeto de algunos estudios de investigación. En materia de censos se reportó la existencia de 880 cerdos pelones mexicanos en el estado de Yucatán, que cumplen estrictamente con las características morfológicas del biotipo (Sierra, 2000). Otro censo realizado en el estado de Puebla arrojó un inventario de 84,810 cerdos criollos, de los cuales el 30% eran de porcicultura tecnificada y 70% de traspatio, sin embargo, el censo fue realizado sin considerar las características morfológicas específicas del biotipo (Huerta *et al.*, 2015). También se reportan análisis productivos y reproductivos, evaluando la fertilidad y prolificidad en hembras tratadas con gonadotropinas (Torres *et al.*, 2005) y las características de la canal (Medina *et al.*, 2002). Respecto a estudios nutricionales, se ha analizado el patrón de consumo de cerdo pelón mexicano alimentados con dietas no convencionales (Peralta *et al.*, 2008). De igual manera, se han realizado caracterizaciones morfológicas, estudios fisiológicos en torno a perfiles endócrinos, así como algunos análisis de diversidad genética utilizando marcadores de microsátélites nucleares (Lemus, 2001; Sarabia *et al.*, 2003; Canul, *et al.*, 2005; Camacho, *et al.*, 2008; Martínez *et al.*, 2016; Sierra *et al.*, 2016). Se ha sugerido que el cerdo pelón mexicano se encuentra en peligro de extinción debido a que el manejo deficiente en la cruce de ejemplares generó una erosión genética (SAGARPA, 2007). Aunque hasta 2005 se reportó la existencia de 238 ejemplares en Yucatán (Sierra 2005), actualmente se ha logrado incrementar el número de individuos mediante la crianza en unidades

de producción con manejo semi-tecnificado. Sin embargo, el conocimiento acerca de sus características genético moleculares es escasa, a pesar de que el cerdo pelón mexicano es un recurso zoológico que posee características que le confieren su rusticidad, y de las cuales los cerdos de líneas comerciales carecen, se sabe poco sobre sus niveles diversidad genética. Para establecer si ha ocurrido pérdida de diversidad genética, las relaciones genéticas intraespecíficas y el origen del cerdo pelón mexicano, se requiere del análisis genético a través de marcadores moleculares. En este sentido, los ejemplares de las unidades de producción con manejo semi-tecnificado del estado de Yucatán representan una oportunidad para la realización de este estudio.

4.4. Marcadores moleculares

Los marcadores moleculares constituyen una herramienta indispensable para determinar la diversidad y estructura genética con un alto grado de precisión y reproductibilidad (Simpson, 1997; Bruford *et al.*, 2003; Al-Samarai y Al-Kazaz, 2015). Los marcadores moleculares que se han utilizado son el polimorfismo de longitud de fragmento de restricción (RFLP), el polimorfismo de longitud de fragmento amplificado (AFLP), el ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD), los microsatélites o la repetición de secuencia simple (SSR), el polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) y el ADN mitocondrial (ADNmt). (González, 2003; Avise, 2009; Ríos *et al.*, 2009; Raza *et al.*, 2016).

Actualmente, los marcadores nucleares más utilizados para las huellas genéticas de individuos y poblaciones son los microsatélites. Los microsatélites son segmentos de ADN repetidos en tándem de 5 a 20 veces, siendo una fuente de información de gran valor debido a su abundancia a lo largo de los genomas eucariontes, elevado polimorfismo, naturaleza codominante, estabilidad, reproducibilidad de los datos obtenidos y amplificación relativamente sencilla al generar un patrón de fragmentos de ADN específicos para cada individuo, que está integrado por las combinaciones provenientes del linaje paterno y materno (Sunnucks, 2001; Bruford *et al.*, 2003; Aranguren *et al.*, 2005; Varshney *et al.*, 2005; Burton, 2009).

La genética de la conservación, o bien, la utilización de la genética para la preservación de especies ha recibido una atención creciente en los últimos años (Allendorf *et al.*, 2001). En genética de la conservación, el conocimiento de la relación entre los individuos es sumamente importante para la elaboración de programas de resguardo de recursos de interés ecológico y

zoogenético, que buscan en general, minimizar la endogamia y la pérdida de variación genética (Frankham *et al.*, 2002).

La diversidad entre organismos es consecuencia de las diferencias de las secuencias de ADN y de los efectos ambientales. La variación genética es notable, cada individuo de una especie, posee una secuencia de ADN única. Las variaciones en el ADN son mutaciones resultantes de la sustitución de un solo nucleótido (SNP), inserción o delección de fragmentos de ADN de diversas longitudes, entre otras mutaciones más complejas (FAO, 2010).

Los marcadores microsatélites han probado ser extremadamente útiles para el análisis de la estructura de las poblaciones y sus relaciones, y se han utilizado en algunos estudios de cerdo pelón mexicano (Lemus, 2001; Canul, *et al.*, 2005; Camacho, *et al.*, 2008; Martínez *et al.*, 2016; Sierra *et al.*, 2016).

4.5. Marcadores de ADN mitocondrial

El genoma mitocondrial en células animales está compuesto por 37 genes en una molécula de ADN circular cerrada, de aproximadamente 17,000 pares de bases (pb) (Avisé, 2009). Específicamente, la secuencia completa del genoma mitocondrial del cerdo (*S. scrofa*) es de 16,679 pb (Ursing *et al.*, 1998; Lin *et al.*, 1999). De los 37 genes que contiene, dos corresponden a los ARN ribosomales 12S y 16S, 22 a diferentes moléculas de ARN de transferencia y 13 codifican subunidades de proteínas que participan en el transporte de electrones y la fosforilación oxidativa. La molécula también incluye una Región Control (RC) donde se inicia la replicación y transcripción de los genes del ADN mitocondrial (ADNmt). El genoma mitocondrial de los animales es altamente compacto; es decir, no contiene intrones o largos tramos intergénicos de secuencias espaciadoras no codificantes, características de los genomas nucleares (Avisé 2000; Kijas *et al.*, 2001; Olivares y Castillo, 2003; Fonseca *et al.*, 2008; Lavrov y Pett, 2016).

El ADNmt ofrece una prueba molecular sensible del proceso evolutivo intraespecífico, como marcador presenta algunas características ventajosas, la principal es que es de rápida evolución, por ello en muchos casos ha revelado una gran diferenciación entre poblaciones no detectada con otros métodos (Ball y Avisé, 1992). Los estudios con marcadores mitocondriales están dirigidos en su inmensa mayoría a resolver problemas filogenéticos. Las variantes o haplotipos del ADNmt registran la historia matrilineal de eventos mutacionales y pueden conectarse

filogenéticamente en un filograma, así mismo, trazar historias filogeográficas y de estructura poblacional relacionada al linaje, el cual puede a su vez sobreponerse a la distribución geográfica del grupo de estudio para inferir cambios demográficos y de dispersión entre especies, a fin de interpretar los procesos evolutivos responsables de la distribución actual de la especie (Dirienzo y Wilson, 1991; Avise 2000).

La transmisión clonal de los haplotipos de ADNmt permite la discriminación de los linajes maternos dentro de las especies y el análisis de secuencias de sus regiones más variables puede usarse para investigar el origen genético de las poblaciones y razas animales y, por lo tanto, el proceso de domesticación de las especies de ganado (Bradley *et al.*, 1996; Luikart *et al.*, 2001). Los marcadores de ADN mitocondrial mayormente utilizados en el análisis de la diversidad genética de animales son los genes de ARN ribosomal 12S y 16S, Citocromo b y la región control. Sin embargo, la Región Control y los genes codificadores de proteínas son acreedores de tasas evolutivas más rápidas en comparación con los genes de ARN ribosomal, por lo que son considerados poderosos marcadores para el análisis de diversidad genética a nivel familia, género y especie. La Región Control ó D-loop presenta la tasa de evolución más rápida de toda la molécula, por lo que es más utilizado para estudios a nivel intraespecífico (Michikawa *et al.*, 1999; Galtier *et al.*, 2009; FAO, 2010; Bronstein *et al.*, 2018;). Los polimorfismos en la secuencia de la región hipervariable del D-Loop o Región Control del ADNmt han contribuido en gran medida a identificar los progenitores silvestres de las especies domesticadas, establecer pautas geográficas de diversidad genética, y a entender la domesticación del ganado (Bruford *et al.*, 2003).

Se ha reportado que las mutaciones en la secuencia de genes mitocondriales codificadores de proteínas en mamíferos, pueden influir en mejorar la capacidad aeróbica y la adaptación a nuevos entornos térmicos en humanos (Mishmar *et al.*, 2003), es decir, las variaciones tienen relación directa a mantener o mejorar la aptitud metabólica (Blier *et al.*, 2001), por lo que la tasa de sustitución de nucleótidos es diferencial entre las especies de animales. Un estudio específico en cerdos ha mostrado que las tasas de sustitución más altas se encuentran en la secuencia de la Región Control, y con menor tasa mutacional en los genes codificadores de proteínas (Kijas, *et al.* 2000; Molnár *et al.*, 2013).

Uno de los genes codificadores de proteínas del genoma mitocondrial más utilizado, es el que codifica para el Citocromo b (Cytb) (Arif *et al.*, 2009). Las secuencias de Cytb se han utilizado

para comprender la diversidad genética de diferentes variedades de cerdos (Randi *et al.*, 1996; Kijas, *et al.*, 2001; Alves *et al.*, 2003; Mona *et al.*, 2007; Souza *et al.*, 2009; Ramayo *et al.*, 2011; Jiang *et al.*, 2015)

V. HIPÓTESIS

- El cerdo pelón mexicano de unidades de producción con manejo semi-tecnificado presenta bajos niveles de diversidad genética.

VI. OBJETIVOS

General:

- Realizar un estudio genético molecular de cerdo pelón mexicano en unidades de producción con manejo semi-tecnificado.

Específicos:

- Analizar los índices de diversidad y diferenciación genética de cerdo pelón mexicano en unidades de producción con manejo semi-tecnificado a través de marcadores de ADNmt.
- Establecer las relaciones genéticas de los haplotipos.
- Revisar las relaciones genealógicas de las líneas maternas.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Material biológico

Se colectaron 51 muestras de sangre y cartílago auricular de cerdo pelón mexicano en cuatro unidades de producción con manejo semi-tecnificado (UP) de las siguientes localidades; Xmatkuil (Municipio de Mérida), Hobonil (Municipio de Tzucacab) y Tixhualactún (Municipio de Valladolid), Yucatán (Fig. 1). La colecta de muestras se realizó mediante un plan de muestreo aleatorio. En Xmatkuil, Mérida, se colectó en dos UP de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY). La primera UP consiste en un sector de investigación en la Posta de la UADY (Posta-UADY) conformada por áreas de maternidad y engorda con un total de 20 animales, donde se colectaron muestras de 10 individuos (georeferenciación: 20°52'02.4"N 89°37'22.4"W). La segunda UP consiste en una granja adyacente únicamente con área de engorda que cuenta con 35 animales (Granja-UADY), donde se colectaron muestras de 12 individuos (georeferenciación: 20°51'50.8"N 89°37'26.2"W). En Hobonil, Tzucacab, en el rancho Hobonil que cuenta con una UP con instalaciones de engorda se colectaron 20 muestras de una piara de 43 animales (georeferenciación: 20°00'56.6"N 89°01'13.7"W). En Tixhualactún, Valladolid, en una UP estructurada por áreas de engorda y maternidad con 41 animales, se colectaron muestras de 15 individuos (georeferenciación: 20°39'01.8"N 88°09'14.4"W). La colecta material biológico consistió en un corte de tejido auricular con el uso de un muescador ó la extracción de sangre procedente de la vena auricular con el uso de jeringas de 1ml. El material biológico se depositó en tubos de 2 ml para su conservación, en una solución buffer (Tris 100 mM pH 8.0, EDTA 100mM pH 8.0, NaCl 10 mM y SDS 2%) (Duton, 1996). Las muestras colocadas en esta solución se conservaron a temperatura ambiente durante su traslado al laboratorio y posteriormente se almacenaron a 4°C hasta la extracción del ADN. Actualmente, las muestras biológicas pertenecen a la colección de muestras biológicas de Fauna Silvestre y Recursos Zoogenéticos del Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología (CMEB) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

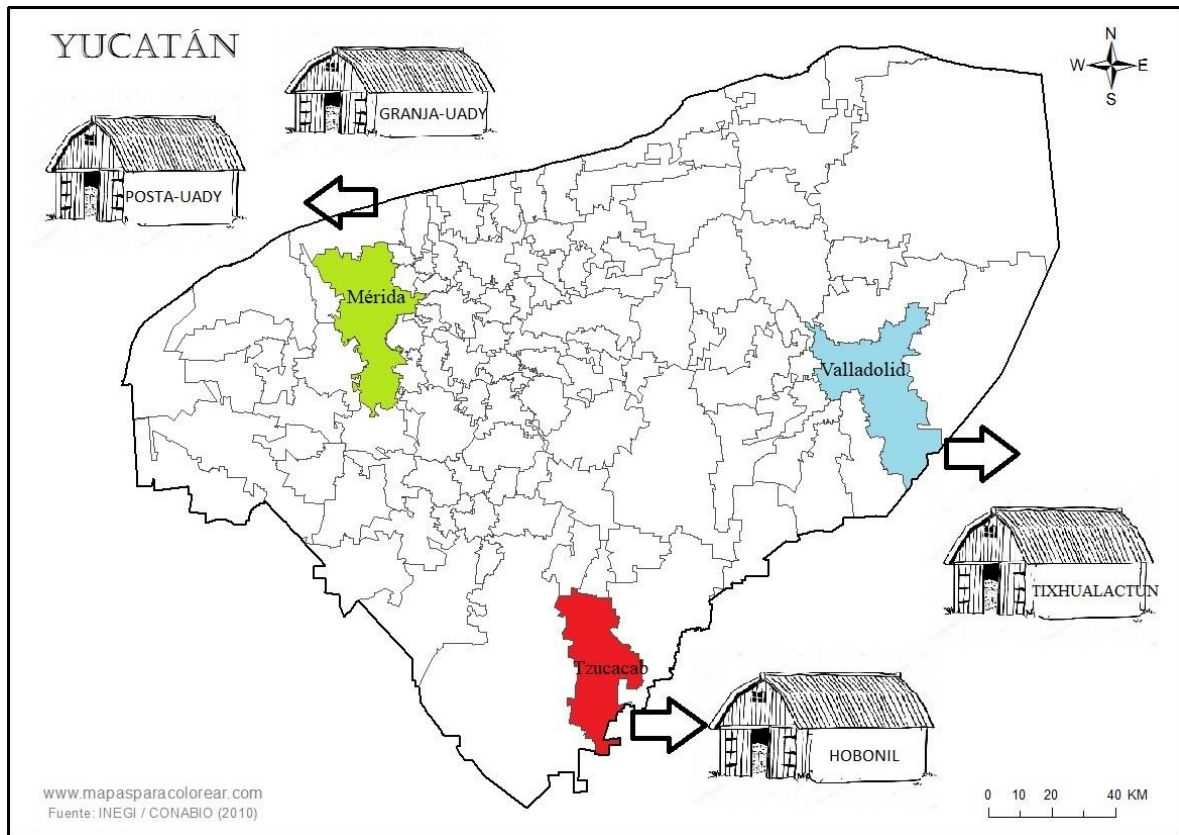


Figura 1. Mapa que indica las localidades donde se realizó la colecta de muestras biológicas de cerdo pelón mexicano en el estado de Yucatán. Color verde (Xmatkuil, Mérida), color rojo (Rancho Hobonil, Hobonil, Tzucacab), color azul (Tixhualactún, Valladolid)

7.2. Extracción de ADN

La extracción de ADN genómico se realizó por medio de la técnica libre de fenol de Fitz-Simmons (1997) como sigue. A partir de las muestras de tejido auricular se tomó un fragmento de 0.5 cm, y en el caso de las muestras de sangre se colocaron 50 μ l de sangre en solución de almacenamiento en un microtubo de 1.5 ml con 150 μ l de solución de extracción (Tris 10mM; EDTA 1mM; NaCl 10mM y SDS 0.1%) y 2.5 μ l de proteinasa K (20 mg/ml) (Sigma). La muestra se homogeneizó y se incubó en un Thermomixer (Eppendorf) a 60°C por 1 hora y 30 minutos en el caso de sangre y 3 horas en el caso de cartílago, realizando inversiones ocasionales de los tubos cada 20 minutos. Se precipitaron las proteínas con 75 μ l de acetato de amonio 7.5 M mezclando por inversión y se refrigeró a -70°C durante 15 minutos. Posteriormente se centrifugó a 13,000 rpm por 20 minutos a 4°C en una centrifuga Sorvall (Thermo Scientific) y se transfirió el sobrenadante a un microtubo limpio. Posteriormente, se precipitó el ADN con

500 μ l de etanol al 95% frío (-20°C), se refrigeró a -70°C durante 15 minutos, se centrifugó a 13,000 rpm por 20 minutos a 4°C y se eliminó el etanol por inversión evitando perder la pastilla de ADN y se lavó con etanol al 70% frío (-20°C). El secado de la pastilla se realizó mediante el uso de un ultraconcentrador (GeneVac) a 55°C durante 15 minutos, finalmente la pastilla se resuspendió en 20 μ l de H₂O destilada desionizada y estéril (H₂O_{dde}).

Se verificó la presencia e integridad del ADN mediante electroforesis en geles de agarosa al 1%, utilizando buffer TAE 1X (Tris-acetato 40mM; EDTA 1mM pH 8), buffer de carga (Xilencianol 0.25%; Bromofenol 0.25%; Glicerol 30%) y colorante Sybr Safe (Invitrogen), utilizando una corriente de 50V, 400mA durante 50 minutos. Al término de la corrida los geles se visualizaron en con luz ultravioleta a 360 nm (Imaging system). El ADN se almacenó a 4°C hasta su utilización.

7.3. Amplificación de ADN mitocondrial por PCR

En la Tabla 1 se enlistan los juegos de oligonucleótidos específicos para las reacciones de amplificación, diseñados en este estudio con base en la secuencia de Cytb y ND2 del genoma de ADNmt *Sus scrofa* reportado en base de datos (No. acceso: MK251046.1).

Tabla 1. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación de Cytb y ND2 por PCR.

OLIGONUCLEOTIDO	SECUENCIA	T _m	Tamaño	BIBLIOGRAFIA
CPM-CYTB-D CPM-CYTB-R	5'-AACGCATTCATTGACCTCCC -3' 5'-TGGCCCTCCTTTTCTGGTTT -3'	56°C	1147 pb	Este estudio
CPM-ND2-D CPM-ND2-R	5'-GCCCATACCCCGAAAATGTT-3' 5'-GGGACGAGAGGGCTGGTGTT-3'	56°C	1077 pb	Este estudio

Las amplificaciones se prepararon en un volumen de 25 μ l en microtubos de 0.2 ml, como sigue; 100 ng de ADN, 10 pmol de cada oligonucleotido, buffer para PCR 1X (20 mM Tris-HCl, pH 8.4, 50 mM KCl), MgCl₂ 1.5 Mm, 200 μ M de cada uno de los dNTP, Platinum *Taq* DNA polimerasa 1.5 U (Invitrogen) y UltraPure Distilled Water (Invitrogen). Las mezclas de reacción se amplificaron en un termociclador TC-412 (Techne) bajo las siguientes condiciones:

desnaturalización a 95°C por 5 minutos, seguida por 30 ciclos de desnaturalización a 94°C por 45 segundos, alineamiento a 56°C(Cytb) o 58°C (ND2) por 45 segundos, extensión a 72°C por 1 minuto, y una extensión final a 72°C por 10 minutos. Los productos de amplificación se revisaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5% con buffer TAE 1X (Tris-acetato 40mM; EDTA 1mM pH 8), buffer de carga (Xilencianol 0.25%; Bromofenol 0.25%; Glicerol 30%), colorante Sybr Safe (Invitrogene) y el marcador de tamaño molecular 1kb Plus DNA Ladder (Invitrogene), a 50V, 400mA durante 50 minutos y los geles se visualizaron con luz ultravioleta a 360 nm (Imaging system). Finalmente los productos de amplificación se transfirieron a microtubos de 1.5 ml y se secaron a 55°C durante 20 minutos en un ultraconcentrador miVac DNA (GeneVac) para su posterior envío a secuenciación.

7.4. Secuenciación y análisis de secuencias

Los productos de amplificación de ADN se secuenciaron en ambos sentidos de las cadenas por el método de dideoxy (Sanger et al., 1977), mediante el servicio comercial de Macrogen USA. Se corroboró la identidad de las secuencias mediante un alineamiento comparativo con secuencias reportadas en la base de datos GenBank (NCBI), utilizando el programa Nucleotide Blast (Zhang et al., 2000). Las secuencias y los electroferogramas fueron editados y analizados mediante el software Sequencher 4.1.4 y Bioedit 7.2 (Hall, 1999; Nishimura, 2000).

7.5. Diversidad y diferenciación genética

Para el análisis de diversidad genética se obtuvo el número de Haplotipos (H), diversidad haplotípica (Hd) y nucleotídica (Pi), sitios polimórficos (S), sitios invariantes y sitios parsimoniosamente informativos, mediante el programa DnaSP5.10 (Librado y Rozas, 2009). Para el análisis de diferenciación genética se obtuvo una matriz de distancias pareadas entre las secuencias, mediante el programa MEGA 5.05 (Tamura et al., 2011). Para determinar la distribución de la variación y la diferenciación genética entre grupos, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) con ayuda del software ARLEQUIN 3.1 (Excoffier et al. 2005).

7.6. Análisis filogenéticos y genealógicos

Se establecieron las relaciones entre los haplotipos y sus frecuencias, mediante una red de haplotipos Median-joining con el software NETWORK v4.6.0.0 (Fluxus Technology, 2012). En la construcción de las redes se utilizó el método que combina el algoritmo de Kruskal para encontrar árboles de expansión mínima favoreciendo conexiones cortas y el algoritmo heurístico de máxima parsimonia de Farris (MP), el cual agrega secuencialmente vectores (Bandelt *et al.*, 1999).

Se construyeron árboles filogenéticos y genealógicos bajo Inferencia Bayesiana (Bayesian Inference -BI) y Maxima Verosimilitud (Maximum Likelihood -ML), mediante el uso de los programas Mr Bayes V3.1 (Ronquist y Huelsenbeck, 2003) y RaxML (Stamatakis 2004) respectivamente. Para el análisis filogenético de haplotipos del género *Sus* y las relaciones genealógicas de los haplotipos de *S. scrofa*, se utilizó el modelo de evolución molecular GTR+I+G (General Time Reversible, Invariable, Gamma) mediante el software jModelTest 2.1.4 (Posada, 2008). El análisis Bayesiano se corrió por 10^6 generaciones usando doble cadena de Monte Carlo Markov (MCMC_s) con las opciones estándar en el programa Mr. Bayes V3.1, descartando el 25% de los árboles para obtener un mejor árbol consenso. Los soportes de los nodos se estimaron con análisis de probabilidad posterior (PP) y bootstrap (PB). La visualización de los árboles se realizó mediante el programa FigTree v1.4.2 (Rambaut, 2012).

VIII. RESULTADOS

8.1. Extracción de ADN y amplificación por PCR

En la figura 2, se muestra la integridad de algunas de las extracciones realizadas. En general las muestras de ADN purificado mostraron integridad y la concentración necesaria para las pruebas de amplificación de Cytb y ND2 por PCR.

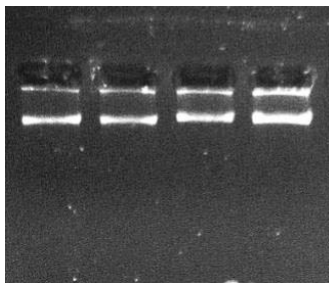


Figura 2. ADN purificado de muestras biológicas de cerdo pelón mexicano. Gel de agarosa al 1% en TAE 1X teñido con SyBr Safe (0.7%).

Se obtuvieron 51 productos de amplificación de ND2 y 51 de Cytb con los tamaños esperados (1077 y 1127 pb respectivamente). En la figura 3, se muestran algunos de los productos de amplificación de ND2 de algunas de las muestras de ADN.

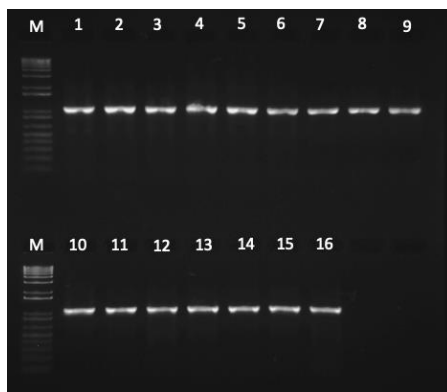


Figura 3. Productos de amplificación del marcador ND2 de cerdo pelón mexicano. Gel de agarosa al 1.5% en TAE 1X teñido con SyBr Safe (0.7%). Carril M, marcador de tamaño molecular 1Kb DNA Plus Ladder; Carriles 1-16, productos de amplificación del ADN de 16 de individuos.

8.2. Análisis de las secuencias

Se obtuvo un total de 43 secuencias de ND2 (868 pb) y 49 secuencias de Cytb (1041 pb). El análisis de comparación con bases de datos (GenBank, NCBI) mostró una alta identidad con secuencias reportadas para cerdos ibéricos, cubanos, brasileños y jabalíes españoles. (Tabla 2).

Tabla 2. Comparación de secuencias de cerdo pelón mexicano con bases de datos NCBI-BLAST.

Marcador	Secuencia	Cobertura %	Identidad %	No. Acceso
Cytb	Cerdo brasileño	100%	100%	KJ476208.1
	Cerdo cubano	100%	100%	JN406894.1
	Cerdo ibérico	100%	100%	FJ236993.1
	Jabalí español	100%	100%	AY237513.1
ND2	Cerdo ibérico	100%	100%	FJ236993.1
	Jabalí español	100%	99.88%	FJ237003.1

8.3. Análisis de diversidad y diferenciación genéticas

Los análisis de diversidad genética se realizaron en primera instancia por UP con ambos marcadores. En la UP de Tixhualactún, el análisis del marcador Cytb reveló tres haplotipos (H1, H42 y H118) con 18 sitios polimórficos, diversidad haplotípica y nucleotídica altas ($H_d = 0.733$ y $\pi = 0.00916$). El marcador ND2 reveló dos haplotipos (H1 y H3) con 15 sitios polimórficos, H_d moderada (0.533) y π alta (0.00922) (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de diversidad genética de cerdo pelón mexicano de la UP de Tixhualactún, Valladolid a través de los marcadores Cytb y ND2.

UP	Marcador	n	nt	H	H_d	π	S
Tixhualactún	Cytb	10	1041	3	0.733 (+/-0.076)	0.00916 (+/-0.00152)	18
Tixhualactún	ND2	10	868	2	0.533 (+/-0.095)	0.00922(+/-0.00164)	15

UP= unidad de producción, n= número de individuos, nt= número de caracteres, H= haplotipos, H_d = diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica, S= sitios polimórficos.

En la UP Granja-UADY, el Cytb reveló dos haplotipos (H4 y H42) con dos sitios polimórficos, baja diversidad haplotípica y nucleotídica ($H_d = 0.167$ y $\pi = 0.00032$). Con ND2 se encontraron dos haplotipos (H1 y H2) con un sitio polimórfico, y baja diversidad haplotípica y nucleotídica ($H_d = 0.182$ y $\pi = 0.00021$) (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis de diversidad genética de cerdo pelón mexicano de la UP Granja-UADY a través de los marcadores Cytb y ND2.

UP	Marcador	n	nt	H	Hd	π	S
Granja UADY	Cytb	12	1041	2	0.167 (+/-0.134)	0.00032 (+/-0.00026)	2
Granja UADY	ND2	11	868	2	0.182 (+/-0.144)	0.00021(+/-0.00017)	1

UP= unidad de producción, n= número de individuos, nt= número de caracteres, H= haplotipos, Hd= diversidad haplotípica, Pi= diversidad nucleotídica, S= sitios polimórficos.

En la UP Posta-UADY, el análisis del marcador Cytb, reveló tres haplotipos (H4, H42 y H118) con tres sitios polimórficos, diversidad haplotípica alta ($H_d = 0.622$) y diversidad nucleotídica baja ($\pi = 0.00102$). El marcador ND2 reveló dos haplotipos (H1 y H2) con un sitio polimórfico, y baja diversidad haplotípica y nucleotídica ($H_d = 0.250$ y $\pi = 0.00029$). (Tabla 5).

Tabla 5. Análisis de diversidad genética de cerdo pelón mexicano de la UP Posta-UADY a través de los marcadores Cytb y ND2.

UP	Marcador	n	nt	H	Hd	π	S
Posta UADY	Cytb	10	1041	3	0.622 (+/-0.138)	0.00102 (+/-0.00031)	3
Posta UADY	ND2	8	868	2	0.250 (+/-0.180)	0.00029(+/-0.00021)	1

UP= unidad de producción, n= número de individuos, nt= número de caracteres, H= haplotipos, Hd= diversidad haplotípica, Pi= diversidad nucleotídica, S= sitios polimórficos.

Por último, el análisis de individuos de la UP Hobonil, a través del gen Cytb reveló dos haplotipos (H40 y H118) con dos sitios polimórficos, y baja diversidad haplotípica y nucleotídica ($H_d = 0.485$ y $\pi = 0.00093$). El marcador ND2 reveló un haplotipo (H1) con cero sitios polimórficos ($H_d = 0.000$ y $\pi = 0.00000$) (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis de diversidad genética de cerdo pelón mexicano de la UP Hobonil-Tzucacab a través de los marcadores Cytb y ND2.

UP	Marcador	n	nt	H	Hd	π	S
Hobonil	Cytb	17	1041	2	0.485 (+/-0.079)	0.00093 (+/-0.00015)	2
Hobonil	ND2	14	868	1	0.000 (+/-0.000)	0.00000 (+/-0.00000)	0

UP= unidad de producción, n= número de individuos, nt= número de caracteres, H= haplotipos, Hd= diversidad haplotípica, Pi= diversidad nucleotídica, S= sitios polimórficos.

Posteriormente, se realizó un análisis que incluyó las 49 secuencias de Cytb y otro con las 43 secuencias de ND2 de las cuatro unidades productivas. El marcador Cytb reveló cinco haplotipos (H1, H4, H40, H42 y H118) con 18 sitios polimórficos, diversidad haplotípica alta (Hd = 0.716) y diversidad nucleotídica baja (π = 0.00326). El marcador ND2 reveló tres haplotipos (H1, H2 y H3) con 16 sitios polimórficos, diversidad haplotípica y nucleotídica baja (Hd = 0.255 y π = 0.00309) (Tabla 7).

Tabla 7. Análisis de diversidad genética de cerdo pelón mexicano de cuatro Unidades de Producción de Yucatán a través de los marcadores Cytb y ND2.

Marcador	n	nt	H	Hd	π	S	D_T
Cytb	49	1041	5	0.716 (+/-0.038)	0.00326 (+/-0.00102)	18	-0.50370 (NS)
ND2	43	868	3	0.255 (+/-0.083)	0.00309(+/-0.00125)	16	-0.87232 (NS)

UP= unidad de producción, n= número de individuos, nt= número de caracteres, H= haplotipos, Hd= diversidad haplotípica, Pi= diversidad nucleotídica, S= sitios polimórficos, D_T = D-Tajima. NS= No significativo, $P > 0.10$.

A continuación, para obtener las métricas de diversidad genética de la especie se realizó un análisis que incluyó 684 secuencias de Cytb de *S. scrofa domesticus* y 330 secuencias de *S. scrofa* (jabalí) reportadas en la base de datos internacional (GenBank, NCBI). El alineamiento reveló 226 haplotipos con 268 sitios polimórficos, de los cuales 118 haplotipos correspondieron cerdos domesticados y 108 haplotipos a jabalíes, diversidad haplotípica y nucleotídica altas (Hd = 0.865 y π = 0.00858) (Tabla 8).

Tabla 8. Análisis de diversidad genética de *Sus scrofa* a través del marcador Cytb.

Marcador	n	nt	H	Hd	π	S	D _T
Cytb	1063	1041	226	0.865 (+/-0.0095)	0.00858 (+/-0.00024)	268	-2.20361 (*)

n= número de individuos, nt= número de caracteres, H= haplotipos, Hd= diversidad haplotípica, Pi= diversidad nucleotídica, S= sitios polimórficos, D_T= D-Tajima. * Estadísticamente significativa P<0.01

En el caso del marcador ND2 se incluyeron 229 secuencias reportadas para *S. scrofa domesticus* y 64 secuencias reportadas para *S. scrofa* (jabalí). El análisis reveló 70 haplotipos con 94 sitios polimórficos, 49 haplotipos en cerdos domésticos y 21 haplotipos de jabalíes y diversidad haplotípica y nucleotídica altas (Hd = 0.792 y π = 0.00827) (Tabla 9).

Tabla 9. Análisis de diversidad genética *Sus scrofa* a través del marcador ND2.

Marcador	n	nt	H	Hd	π	S	D _T
ND2	336	868	70	0.792 (+/-0.021)	0.00827 (+/-0.00041)	94	-1.55228 (NS)

n= número de individuos, nt= número de caracteres, H= haplotipos, Hd= diversidad haplotípica, Pi= diversidad nucleotídica, S= sitios polimórficos, D_T= D-Tajima. NS= No significativa, P>0.10.

En la Tabla 10 se muestran los haplotipos identificados por UP, resaltando que H1 de Cytb solo se identificó en la UP Tixhualactún.

Tabla 10. Haplotipos identificados en cerdo pelón en Yucatán.

UP/LOCALIDAD	H/Cytb	H/ND2
Tixhualactún-Tixhualactún	H1, H42, H118	H1, H3
Hobonil-Tzucacab	H40, H118	H1
GRANJA UADY-Mérida	H4, H42	H1, H2
POSTA UADY-Mérida	H4, H42, H118	H1, H2

Para determinar la diferenciación genética entre variedades de cerdo e individuos silvestres de la especie, se realizó una matriz de distancias pareadas entre de cerdo pelón mexicano, cerdo brasileño, cerdo cubano, cerdo ibérico y jabalíes de origen europeo (español e italiano) y jabalí de origen asiático (chino) a través de secuencias de Cytb (Tabla 11). En los resultados obtenidos dentro de la población de cerdo pelón, los haplotipos H1 y H118 presentaron la mayor distancia genética (1.7%). Sin embargo, H1 mostró baja distancia genética con jabalí chino (0.1%), y mayor distancia con jabalí europeo (1.3% y 1.5%). La distancia genética entre algunos haplotipos de cerdo pelón (H4, H40, H42 y H188) y los jabalíes asiáticos es mayor (1.5-1.8%) que con los jabalíes españoles (0.1%-0.4%) e italianos (0.7%-1.0%). La distancia genética entre los cerdos pelones mexicanos y los brasileños, cubanos e ibéricos es baja (0.1%-0.4%), con la excepción del haplotipo H1 (1.5%-1.7%). La distancia genética entre los jabalíes europeos y los jabalíes asiáticos fue similar a la observada entre algunas variedades de cerdo y jabalí (1.4% y 1.6%).

Tabla 11. Matriz de distancias pareadas mostrando las distancias genéticas entre los haplotipos identificados a través del marcador Cytb para cerdo pelón mexicano, cerdo brasileño, cerdo ibérico, cerdo cubano, jabalí europeo (español e italiano) y jabalí asiático (chino). Valores altos (verde), valores medios (amarillo) y valores bajos (rojo).

H1_Cerdo pelón-Valladolid										
H4_Cerdo pelón-UADY Posta	0.014									
H40_Cerdo pelón-Hobonil	0.015	0.001								
H42_Cerdo pelón-UADY Granja	0.016	0.002	0.001							
H118_Cerdo pelón-Valladolid	0.017	0.003	0.002	0.001						
H65_Cerdo ibérico	0.016	0.002	0.001	0.002	0.003					
H45_Cerdo cubano	0.017	0.003	0.002	0.001	0.002	0.003				
H67_Cerdo brasileño	0.015	0.001	0.002	0.003	0.004	0.003	0.004			
H12_Jabali español	0.015	0.001	0.002	0.003	0.004	0.003	0.004	0.002		
H129_Jabali italiano	0.013	0.007	0.008	0.009	0.010	0.009	0.010	0.008	0.008	
H178_Jabali chino	0.001	0.015	0.016	0.017	0.018	0.017	0.018	0.016	0.016	0.014

8.4. Redes de haplotipos Median-joining

Se construyó una red de haplotipos con 1041 caracteres de 49 secuencias de Cytb de cerdo pelón mexicano y 684 secuencias reportadas para *S. scrofa domesticus* (cerdo) en la base de datos internacional (GenBank, NCBI) (Figura 4). Posteriormente se construyó una red de haplotipos considerando las 733 secuencias de cerdo y 330 secuencias reportadas como *S. scrofa* (jabalí) (Figura 5). Se identificaron 118 haplotipos exclusivos de cerdos domésticos, 108 de jabalíes, y entre cerdos domesticados y jabalíes se comparten 17 haplotipos. En la red de cerdos domesticados (Fig. 4), se identificaron tres haplogrupos principales, cada uno con un haplotipo dominante que esta compartido con individuos de cerdo pelón. En la red que incluyó a cerdos y jabalíes (Fig. 5), se pueden observar a los haplogrupos detectados en la red de haplotipos de cerdo (HGI, HGII, HGIII) con los haplotipos dominantes H1, H4 y H40 (Fig. 4), también compartidos por jabalíes europeos y asiáticos. Adicionalmente, se identificaron otros dos haplogrupos (HGIV y HGV), con los haplotipos dominantes H32 y H136 uno de ellos compartido por cerdos y jabalíes y otro exclusivo de jabalíes. Los haplotipos del HGI se localizan principalmente en China y otros países asiáticos. El haplotipo dominante H1 presente en cerdos pelones mexicanos, es compartido con cerdos y jabalíes asiáticos. A partir de H1 derivan 54 haplotipos separados por pocos pasos mutacionales. En el HGII el haplotipo dominante (H4), también está presente en cerdos pelones mexicanos, cerdos y jabalíes asiáticos y cerdos y jabalíes europeos. A partir de H4 derivan 26 haplotipos de cerdos y jabalíes separados por solo un paso mutacional.

En el haplogrupo HGIII el haplotipo dominante (H40) esta compartido por individuos de cerdo pelón mexicano, cerdo ibérico, cerdos brasileños, cerdos cubanos, cerdos coreanos y jabalíes españoles. Adicionalmente, de H40 derivan seis haplotipos con un paso mutacional, dos identificados en cerdo ibérico (H64 y H65), uno en cerdo cubano (H46), uno en cerdo argentino (H221), uno en cerdo coreano (H74) y uno (H42) compartido por individuos de cerdo pelón mexicano, cerdo ibérico y cerdos cubanos. Por otro lado, a partir de H42 derivan con un paso mutacional el haplotipo H45 detectado en cerdo cubano y H118 en cerdo pelón mexicano.

Del haplogrupo HGIV con el haplotipo dominante H32 compartido por cerdo y jabalí asiático, derivan con uno o dos pasos mutaciones 17 haplotipos compartidos por jabalí asiático. A partir del haplogrupo HGV (exclusivo de jabalíes de Indonesia) con el haplotipo dominante H136, derivan cinco haplotipos (Fig. 5).

En el caso del marcador ND2, nuevamente se elaboraron dos redes de haplotipos; una con cerdos y otra incluyendo cerdos y jabalíes. La red de haplotipos de cerdo se construyó con 868 caracteres de 43 secuencias de cerdo pelón mexicano y 229 secuencias reportadas en bases de datos para *S. scrofa domesticus* (Fig. 6). La red que incluyó cerdos y jabalíes se construyó con 272 secuencias de cerdo domesticado y 64 de jabalíes (Fig. 7).

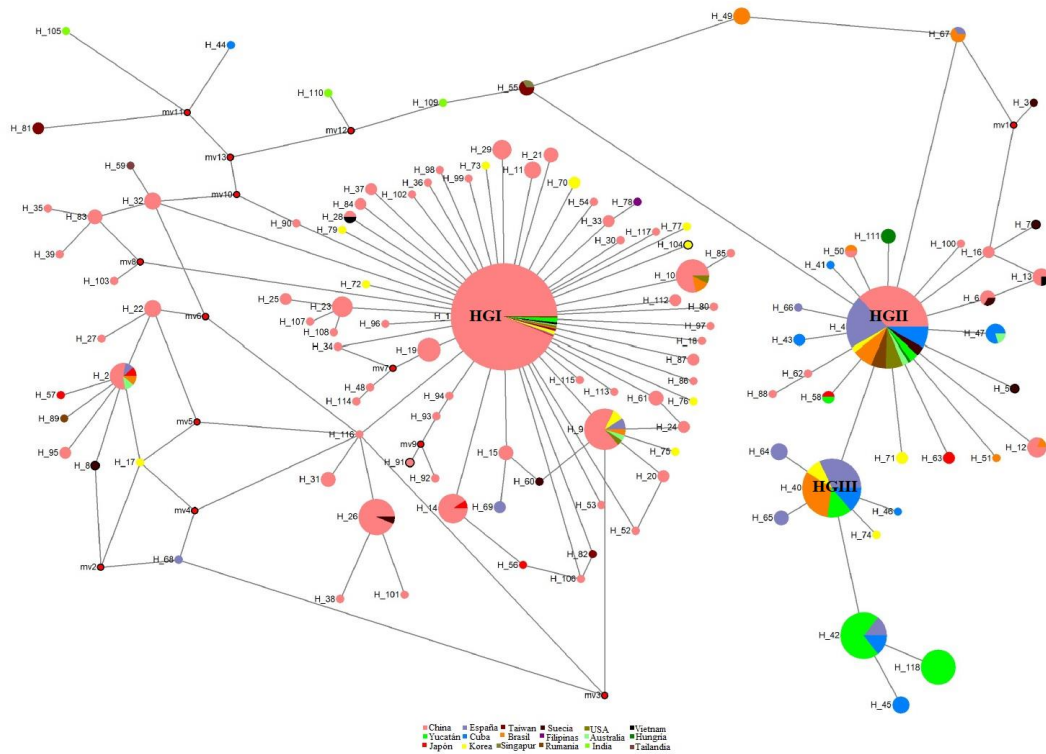


Figura 4. Red de haplotipos Median-joining mostrando las relaciones entre 118 haplotipos de individuos de *S. scrofa domesticus*, basada en 1041 caracteres de la secuencia del gen Cytb. El tamaño de los círculos es proporcional al número de individuos compartiendo el haplotipo. El largo de las líneas no es proporcional al número de mutaciones. El color en los círculos indica el origen de las secuencias. HGI, HGII y HGIII corresponden a los haplogrupos I, II y III, respectivamente.

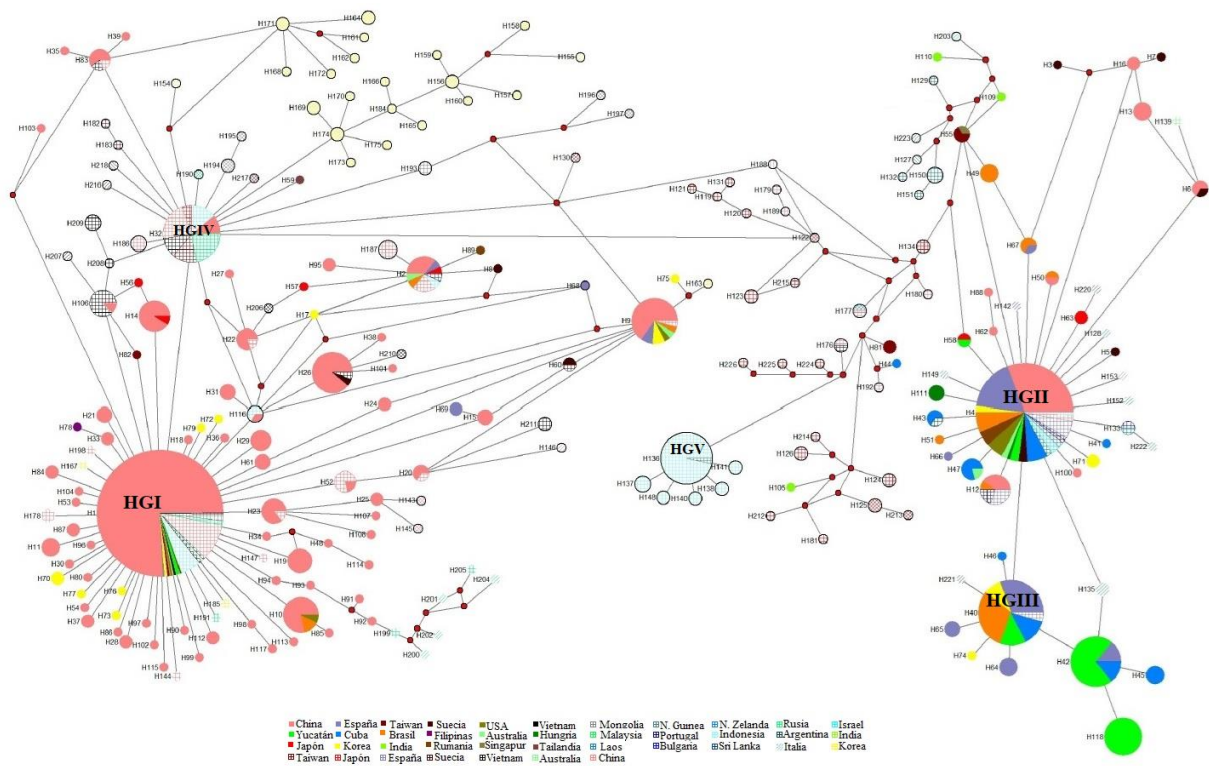


Figura 5. Red de haplotipos Median-joining mostrando las relaciones entre 226 haplotipos de individuos de *S. scrofa* y *S. scrofa domesticus*, basada en 1041 caracteres de la secuencia del gen Cytb. El tamaño de los círculos es proporcional al número de individuos compartiendo el haplotipo. El largo de las líneas no es proporcional al número de mutaciones. El color en los círculos indica el origen de las secuencias. HGI, HGII, HGIII, HGIV y HGV corresponden a los haplogrupos I, II, III, IV y V respectivamente.

En la red de haplotipos con ND2 se observan las relaciones y frecuencias de 49 haplotipos identificados en cerdos domesticados y 21 haplotipos en jabalíes. Los cerdos domesticados y los jabalíes comparten siete haplotipos o líneas maternas (Fig. 6). En la red se pueden apreciar tres haplogrupos (HGI, HGII y HGIII), con un haplotipo dominante en cada caso (H3, H2 y H1, respectivamente) que están compartidos por cerdo pelón, cerdo domesticado y jabalí asiático. Los haplotipos derivados del HGI corresponden a cerdos y jabalíes orientales. A partir de H3 se derivan con uno o dos pasos mutacionales 32 haplotipos. El HGI está separado de los haplogrupos HGII y HGIII por haplotipos hipotéticos (mv3, mv4 y mv6), posiblemente debido a la falta de haplotipos no identificados. En el HGII, el haplotipo dominante H2 se comparte

con cerdo pelón mexicano, cerdo ibérico, y cerdo de varios países orientales y europeos. A partir de H2 derivan con uno a cuatro pasos mutacionales, seis haplotipos. El haplotipo H23 derivado del haplotipo dominante H2 (HGII), fue exclusivo del cerdo Ibérico. Finalmente, destaca el haplogrupo HGIII con el haplotipo dominante H1 compartido por cerdo pelones mexicano y cerdo Ibérico.

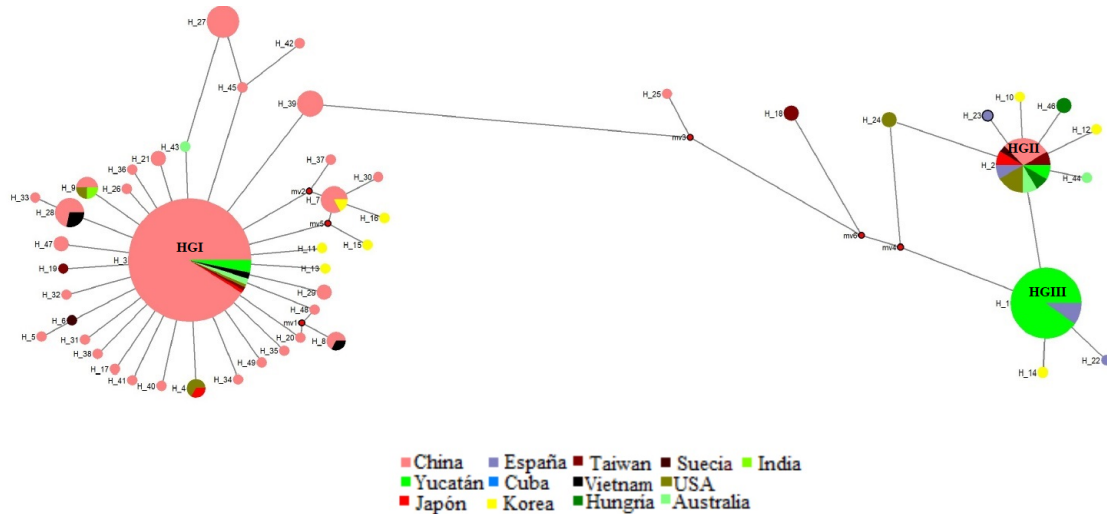


Figura 6. Red de haplotipos Median-joining mostrando las relaciones entre 49 haplotipos de individuos de *S. scrofa domestica*, basada en 868 caracteres de la secuencia del gen ND2. El tamaño de los círculos es proporcional al número de individuos compartiendo el haplotipo. El largo de las líneas no es proporcional al número de mutaciones. El color en los círculos indica el origen de las secuencias. HGI, HGII y HGIII corresponden a los haplogrupos I, II y III, respectivamente.

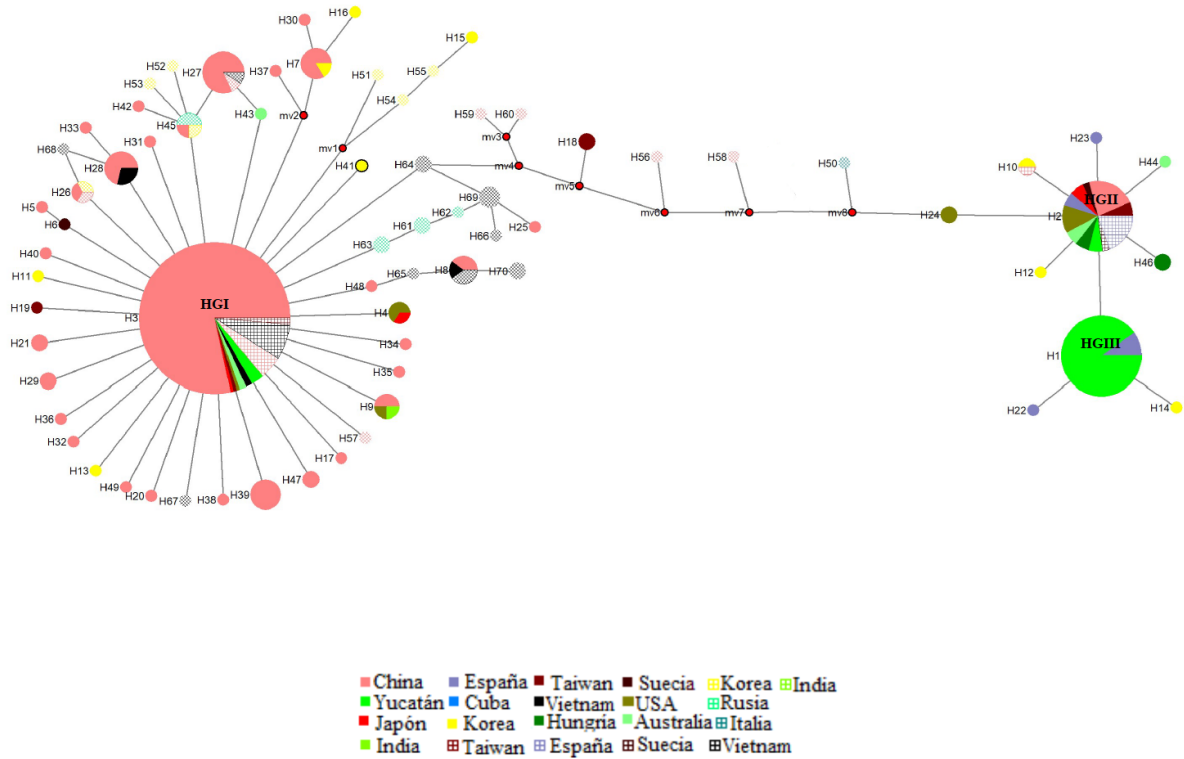


Figura 7. Red de haplotipos Median-joining mostrando las relaciones entre 70 haplotipos de individuos de *S. scrofa* y *S. scrofa domesticus*, basada en 868 caracteres de la secuencia del gen Cytb. El tamaño de los círculos es proporcional al número de individuos compartiendo el haplotipo. El largo de las líneas no es proporcional al número de mutaciones. El color en los círculos indica el origen de las secuencias. HGI, HGII y HGIII corresponden a los haplogrupos I, II y III, respectivamente.

8.5. Análisis filogenéticos del género *Sus*

En la figura 8, se muestra un árbol filogenético construido bajo inferencia Bayesiana (IB) y Máxima Verosimilitud (ML) donde se analizaron 1140 caracteres de 11 secuencias de las siguientes especies; *S. barbatus*, *S. cebifrons*, *S. philippensis*, *S. verrucosus*, *S. celebensis*, *S. scrofa* (cerdo Asiático, Europeo, Italiano, Sueco y pelón mexicano). Como grupo externo se incluyó a la especie *Phacochoerus africanus*, cuyo género pertenece a la familia *Suidae* donde se incluye el género *Sus*. En la topología del árbol, *S. cebifrons* es basal y ancestral para el resto de las especies (PP=1). A continuación, *S. philippensis* muestra una divergencia temprana (PP=0.64), respecto a las otras especies que fueron agrupadas en dos clados (C1 y C2) con un

valor de PP=0.9. El C1 fue monofilético para *Sus scrofa* (PP=1) incluyendo las secuencias de jabalí asiático, italiano, europeo, sueco y cerdo pelón mexicano. El C2 (PP=0.76) integró a las especies *S. celebensis*, *S. barbatus* y *S. verrucosus*.

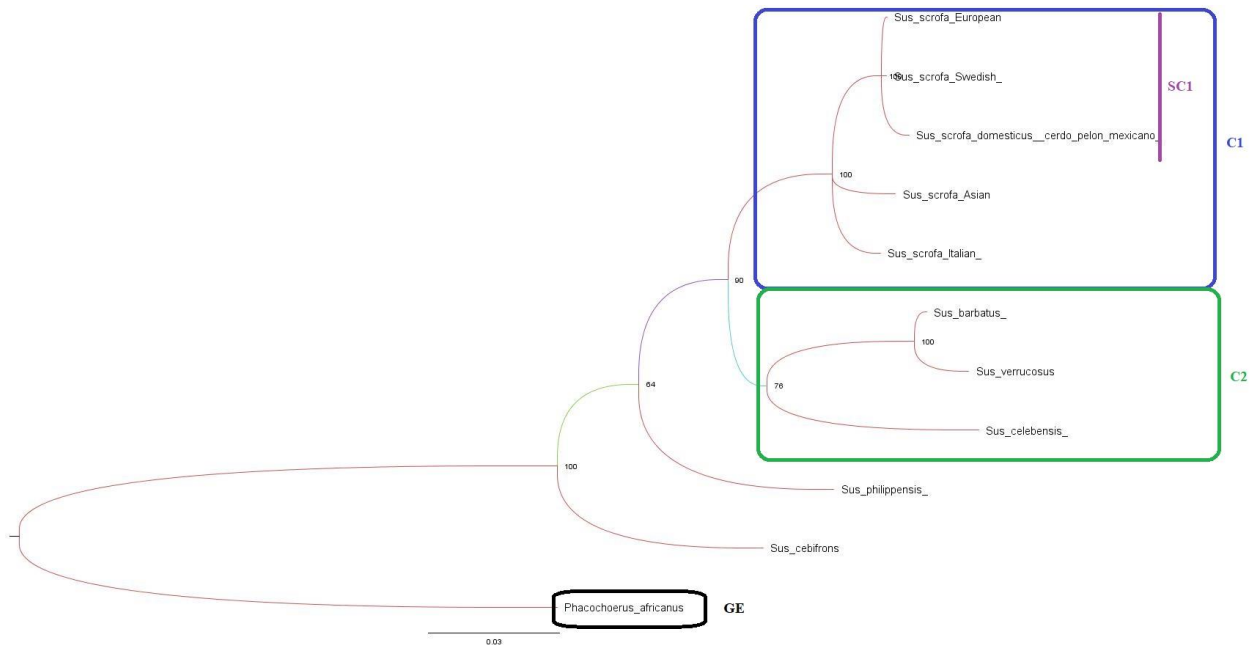


Figura 8. Árbol consenso mostrando las relaciones filogenéticas del género *Sus*, obtenido con inferencia Bayesiana (IB) y Máxima verosimilitud (ML). El árbol está basado en 1140 caracteres del marcador *Cytb*. Los números sobre las ramas representan los valores de probabilidad posterior y bootstrap (PP/BP). La barra debajo del árbol representa la escala de longitud de las ramas. El grupo externo es *P. africanus*.

Con la finalidad de reforzar el análisis se realizó un árbol filogenético utilizando el marcador mitocondrial 16S (Fig. 9), reportado como un gen muy conservado e indicado para análisis evolutivos a nivel de género. El árbol fue construido bajo inferencia Bayesiana (IB) y Máxima Verosimilitud (ML) utilizando 1572 caracteres y 12 secuencias de las siguientes especies; *S. barbatus*, *S. cebifrons*, *S. philippensis*, *S. verrucosus*, *S. celebensis*, *S. scrofa* (cerdo Asiático, Europeo, Italiano, Sueco y un individuo con el haplotipo H42 del presente estudio). Como grupo externo se incluyó una secuencia de la especie *Phacochoerus africanus*. La topología del árbol resultó similar, con la diferencia que *S. celebensis* es basal y ancestral para el resto de las especies (PP=1) y *S. cebifrons* mostró una divergencia temprana respecto a las otras especies (PP=0.65), que fueron igualmente agrupadas en dos clados (C1 y C2) con un valor de PP=0.94. Además, *S. philippensis* se posiciona ancestral a *S. barbatus* y *S. verrucosus* en el C2 (PP=0.99),

diferente a lo que se observa en la topología resultante en el análisis con Cytb. El soporte probabilístico de la mayoría de los nodos en la topología del árbol fue mayor.

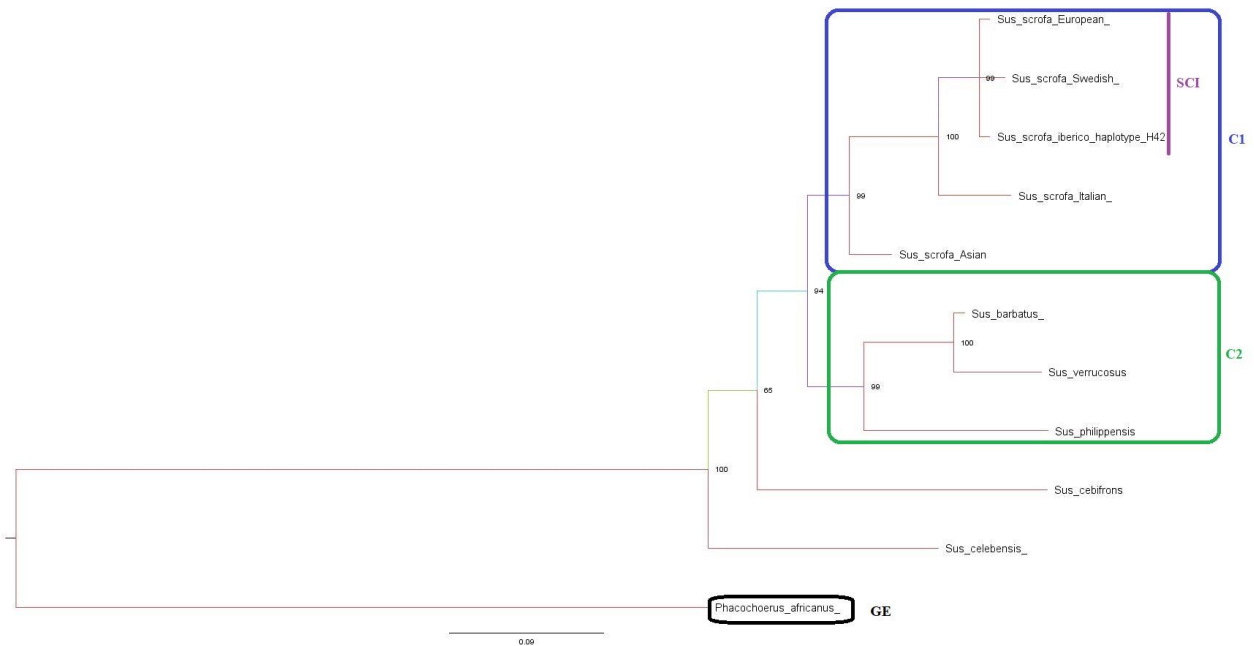


Figura 9. Árbol consenso mostrando las relaciones filogenéticas del género *Sus*, con inferencia Bayesiana (IB) y Máxima verosimilitud (ML). El árbol está basado en 1572 caracteres del marcador 16S. Los números sobre las ramas representan los valores de probabilidad posterior y bootstrap (PP/BP). La barra debajo del árbol representa la escala de longitud de las ramas. El grupo externo es *P. africanus*.

8.6. Análisis genealógicos para la especie *Sus scrofa*

A continuación, se muestra un árbol genealógico construido bajo inferencia Bayesiana (IB) donde se analizaron 1041 caracteres de los 226 haplotipos del marcador Cytb detectados en 1063 individuos de *S. scrofa* (Fig. 10). Como grupos externos se incluyeron secuencias de *P. africanus*, y *S. verrucosus* especie hermana de *S. scrofa*. En la base del árbol se observa al haplotipo H129 de jabalí de origen italiano (PP=1). La topología general se observan tres clados, C1 (PP=0.71), C2 (PP=0.82) y C3 (PP=0.64). El C1 incluyó cinco haplotipos de jabalíes de origen italiano. En el C2 los haplotipos basales corresponden a cerdo de la India (H110) y jabalí de origen ruso (H203) (PP=0.65). Sin embargo, se observa un subclado con una politomía (28 haplotipos, PP=0.87) donde predominan individuos de origen europeo. C2 incluyó a cinco haplotipos compartidos por cerdo pelón mexicano, cerdo de otras variedades y jabalí. Se observa

un subclado (SCI) con un valor $PP=0.55$, que está compuesto por nueve haplotipos, de los cuales dos se detectaron en cerdo Ibérico (H64 y H65), dos en cerdo cubano (H45 y H46), tres en cerdo pelón mexicano (H40, H42 y H118), uno en cerdo coreano (H74) y uno en cerdo argentino (H221). Entre los haplotipos detectados en cerdo pelón mexicano, el haplotipo H40 se posiciona basal a los haplotipos H42 y H118.

En el C3, el haplotipo H81 originario de Taiwán ($PP=0.64$) es basal, y destaca la inclusión de cerdo y jabalí asiático. En el C3 la topología muestra politomia con algunos subclados (SCII-SCXI). En el SCII ($PP=0.88$) que corresponde al haplogrupo HGV en la red de haplotipos con Cytb, se agrupan siete haplotipos; H176 compartido por jabalíes procedentes de China y Vietnam se posicionó basal a los haplotipos H136, H137, H138, H140, H141, H148, compartidos por jabalíes de Indonesia. A continuación, el SCIII ($PP=0.66$), está compuesto por 11 haplotipos, diez de los cuales son de jabalíes procedentes de Japón y uno de cerdo domesticado de la India. El SCIV ($PP=0.94$) está integrado por jabalíes asiáticos; los haplotipos H180 y H177 divergieron tempranamente del resto, que se observan como subclados no resueltos (H119-H123, H131, H179, H188, H189 y H215).

El SCV ($PP=0.99$), presenta una politomia donde se incluyó el haplotipo H1, y haplotipos compartidos por cerdo y jabalí. En el SCVI ($PP=1$) se aprecian dos haplotipos de jabalíes de Mongolia. El SCVII ($PP=0.81$), está integrado por seis haplotipos de origen chino, de los cuales uno (H23) es compartido por cerdos y jabalíes. En el SCVIII ($PP=1$), tres haplotipos de cerdo de China, divergen tempranamente de seis haplotipos de jabalíes de Rusia. El SCIX ($PP=0.64$) está compuesto por seis haplotipos de jabalí de Corea (H161-H172) y tres haplotipos de cerdos de China (H35, H39 y H83), sin embargo, el H83 se encuentra compartido por jabalíes y cerdos de China, así como jabalíes de Vietnam. En el SCX ($PP=0.74$) se aprecia una politomia compuesta por 10 haplotipos de jabalíes de amplia distribución geográfica. Finalmente, el SCXI ($PP=1$), corresponde al haplogrupo HGIV de la red de haplotipos con Cytb, integrado por haplotipos de jabalíes de Corea.

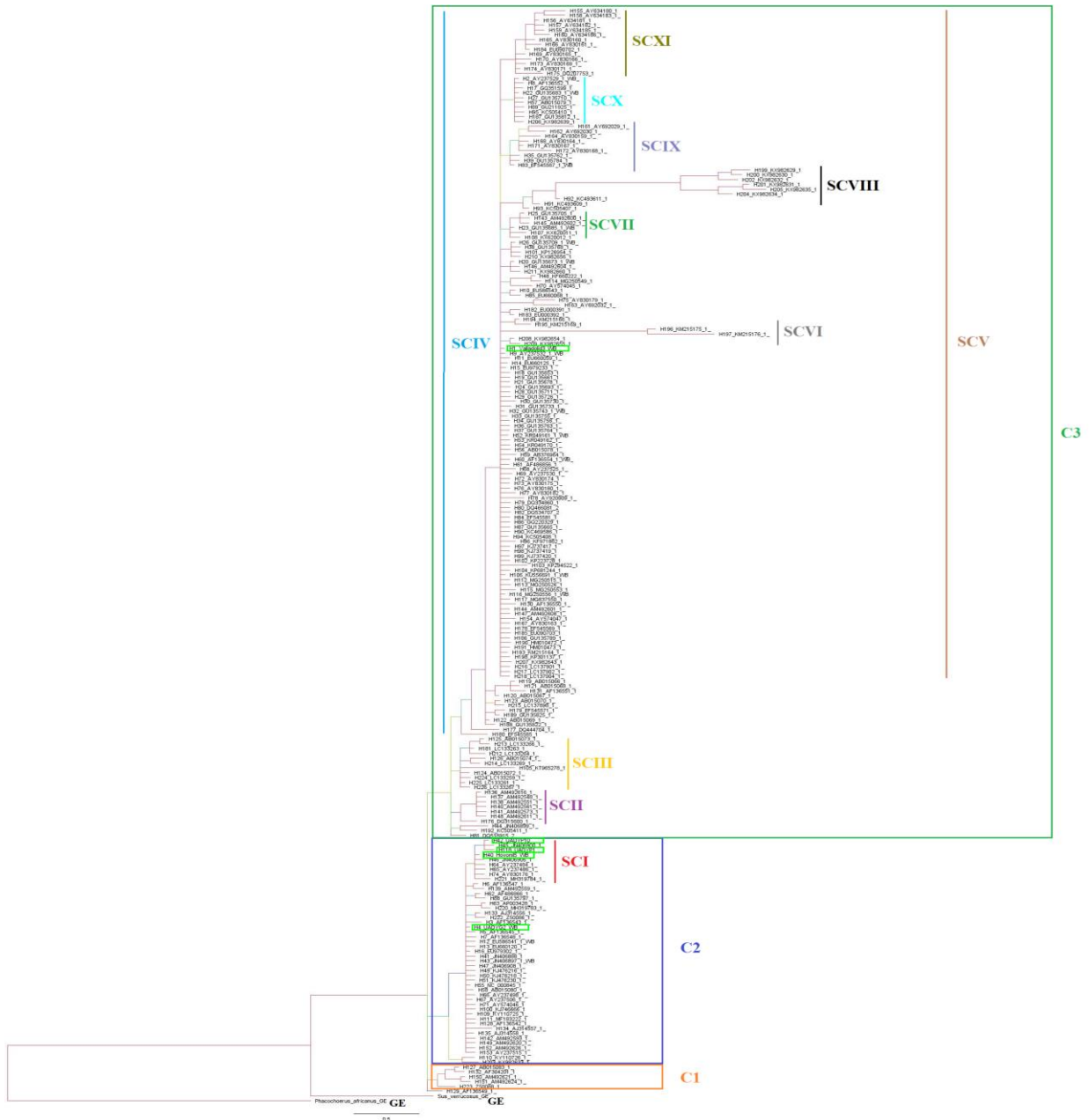


Figura 10. Árbol genealógico de *S. scrofa* obtenido con inferencia Bayesiana, basado en 1041 caracteres de 226 haplotipos de Cytb. La barra debajo del árbol representa la escala de longitud de las ramas. Los grupos externos son *S. verrucosus* y *P. africanus*.

En el árbol construido bajo ML (Fig. 11), se mantuvieron las siguientes coincidencias topológicas; los cinco haplotipos identificados de cerdo pelón mexicano mantuvieron su posición, en el C2 cuatro haplotipos (H4, H40, H42 y H118) y en el C3 un haplotipo (H1). Se identifican los mismos clados C1, C2 y C3, y subclados SCI-SCXI obtenidos en la genealogía

bajo inferencia bayesiana, sin embargo, hubo algunas diferencias. Los haplotipos basales del C3 (H44, H81 y H192) se observan como politomia. El SCI se separa en dos subclados no resueltos a diferencia del obtenido bajo inferencia bayesiana. El SCII y SCIII se ubicaron en la base del árbol. En el SCX se integran ocho haplotipos que el análisis bayesiano posiciona en la politomia observada en el SCV. El análisis mediante máxima verosimilitud intenta resolver politomias observadas bajo inferencia bayesiana, integrando haplotipos dentro de los grupos, sin embargo, el soporte de los nodos no es confiable ($PB < 0.5$).

Se realizó un árbol genealógico construido bajo inferencia Bayesiana (IB) con 868 caracteres de 70 haplotipos del gen ND2 en 336 individuos de *S. scrofa* (Fig. 12). Como grupo externo se utilizó la especie *P. africanus*. La topología del árbol mostró una politomia y dos clados principales C1 (PP=0.56) y C2 (PP=0.82). En C1, se observa una politomia y un subclado (SCI) (PP=0.71) donde se agrupó el haplotipo H1 detectado en cerdo pelón mexicano y cerdo ibérico, el haplotipo H22 de cerdo Ibérico y el haplotipo H14 de cerdo de Corea. La politomia se compone por un haplotipo detectado en cerdo pelón (H2), dos en cerdo de Corea y jabalí de China (H10 y H12), uno en cerdo ibérico (H23) y cerdos de Australia y Hungría (H44 y H46). En el C2 se aprecian cuatro haplotipos basales, el H50 (PP=0.82) de jabalí italiano, los haplotipos H56 y H58 (PP=0.97) de jabalíes chinos y el H18 (PP=0.92) de cerdos de Taiwán, una politomia donde se ubicó al haplotipo H3 detectado en cerdo pelón mexicano, y siete subclados (SCII-SCVIII).

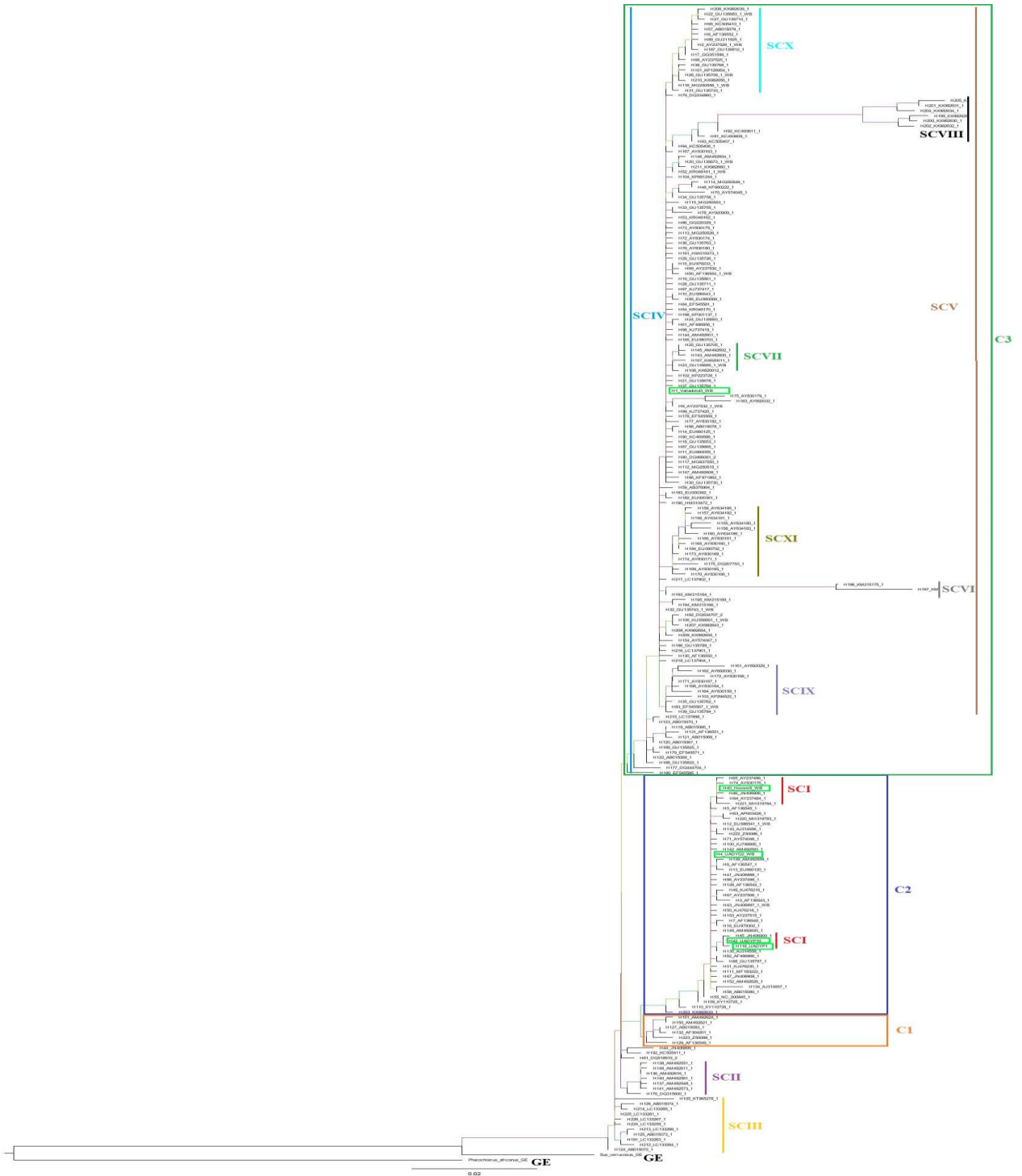


Figura 11. Árbol genealógico de *S. scrofa* obtenido con análisis Máxima Verosimilitud basado en 1041 caracteres de 226 haplotipos de Cytb. La barra debajo del árbol representa la escala de longitud de las ramas. Los grupos externos son *S. verrucosus* y *P. africanus*.

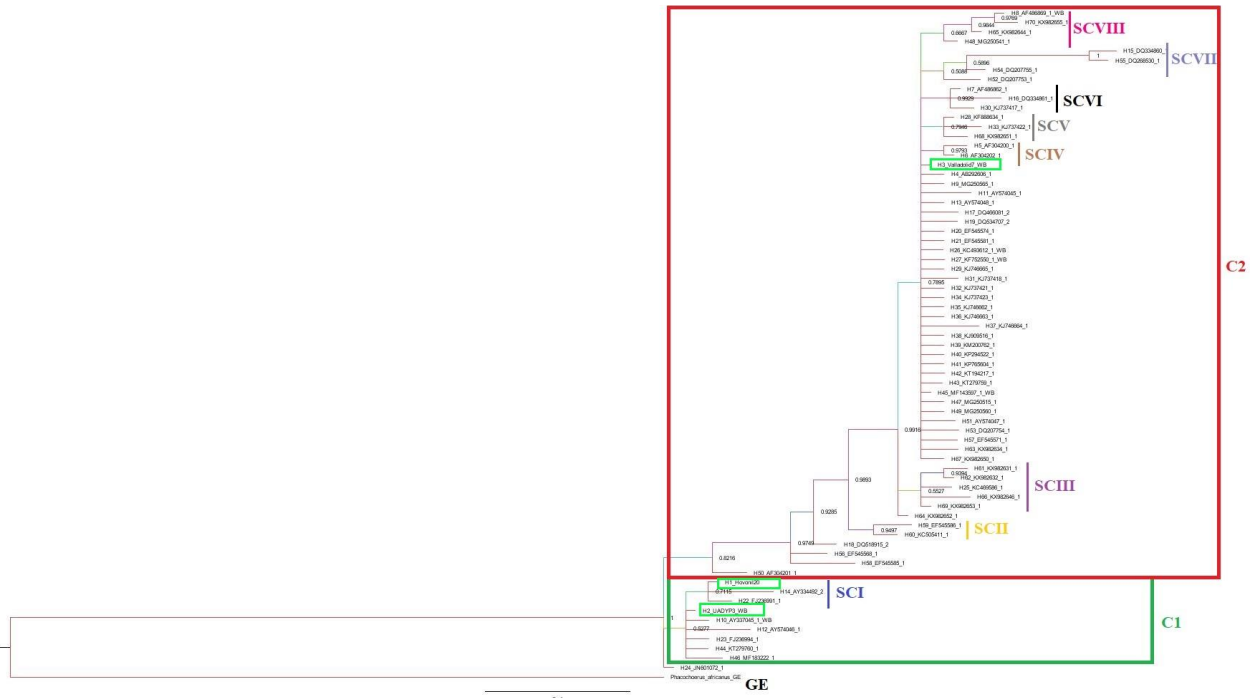


Figura 12. Árbol genealógico de *S. scrofa* obtenido bajo inferencia Bayesiana, basado en 868 caracteres de 70 haplotipos de ND2. Los números sobre las ramas representan los valores de probabilidad posterior (PP). La barra debajo del árbol representa la escala de longitud de las ramas. El grupo externo es *P. africanus*.

El SCII (PP=0.94) está conformado por dos haplotipos (H59 y H60) detectados en jabalí chino. En el SCIII (PP=0.55) se aprecian cinco haplotipos; H61 y H62 de jabalíes de Rusia, el H25 de cerdo de China y los haplotipos H66 y H69 de jabalíes de Vietnam. En el SCIV (PP = 0.79), se incluyeron tres haplotipos (H28, H33 y H68) de cerdos de China y jabalíes de Vietnam. En el SCV (PP=0.99) se observan tres haplotipos (H7, H16 y H30) de cerdos coreanos y chinos. El SCVI (PP=0.58) se integra por cuatro haplotipos; jabalíes de Corea (H52, H54, H55) y cerdos nativos de Corea (H15). Finalmente, en el SCVII (PP=0.86), se agrupan cuatro haplotipos, el H48 de cerdo de China, los haplotipos H65 y H70 de jabalí de Vietnam y el H8 compartido entre cerdo y jabalí de Vietnam.

Respecto a los resultados obtenidos en el análisis por máxima Verosimilitud (Fig. 13), se mantuvieron las siguientes coincidencias topológicas respecto al análisis bayesiano. Los haplotipos de cerdo pelón mexicano conservaron su ubicación, en el C1 dos haplotipos (H1 y H2) y en el C2 un haplotipo (H3). Se mantienen los mismos grupos, es decir, dos clados (C1 y C2), y ocho subclados (SCI-SCVIII). Las diferencias radican en la integración de haplotipos sin

resolver a subclados, y la presencia de un subclado adicional (SCIX). El análisis mediante ML resuelve en mayor medida las politomias, pero el soporte de los nodos y las ramas es bajo.

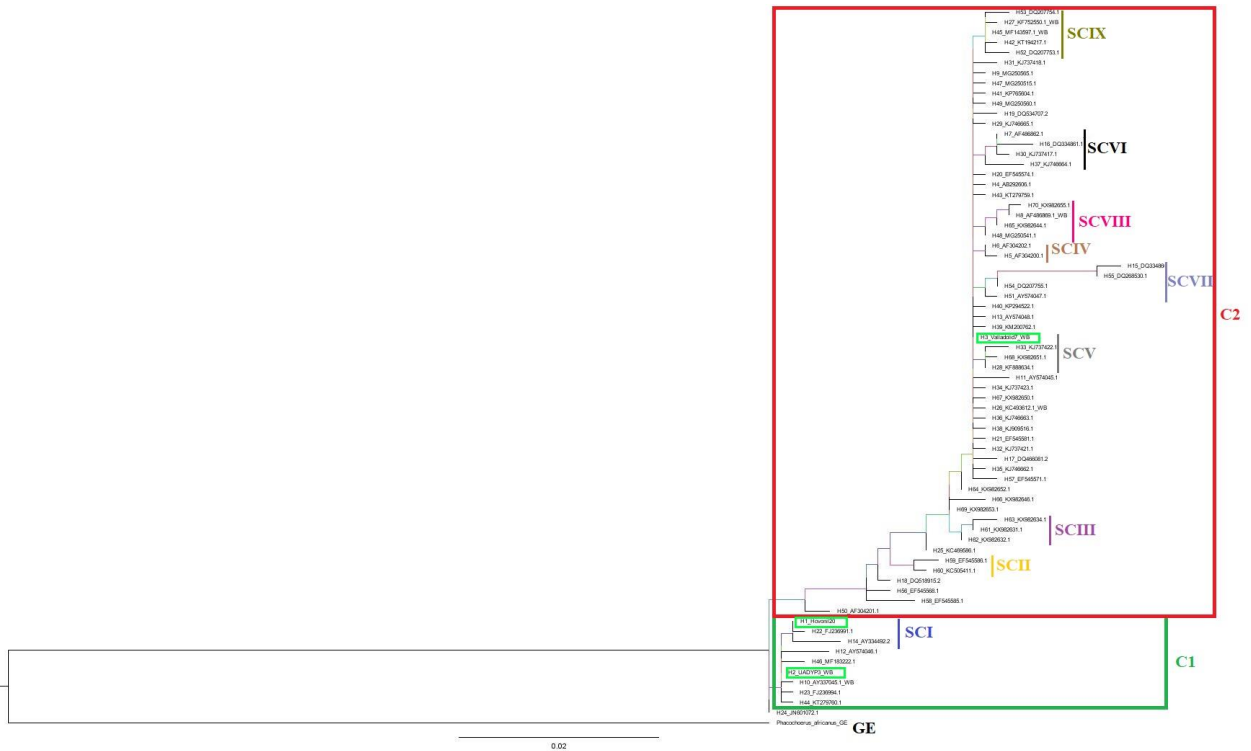


Figura 13. Árbol genealógico de *S. scrofa* obtenido con Máxima Verosimilitud, basado en 868 caracteres de 70 haplotipos de ND2 (DNAmT). Los números sobre las ramas representan los valores de bootstrap (BP). La barra debajo del árbol representa la escala de longitud de las ramas. El grupo externo es *P. africanus*.

IX. DISCUSIÓN

Diversidad y diferenciación genética

En el presente trabajo los análisis de las métricas de diversidad genética por unidad de producción de cerdo pelón mexicano en Yucatán, mostraron la presencia de diferentes linajes. En la UP Tixhualactún se encontraron individuos con alta diversidad genética y alto polimorfismo, mientras que las UP Granja-UADY y UP Hobonil revelaron baja diversidad genética y bajo polimorfismo. La UP Posta-UADY mostró valores de moderados a bajos. Cuando el análisis incluyó todas las secuencias de cerdo pelón mexicano, los resultados revelaron alta diversidad haplotípica y baja diversidad nucleotídica sugiriendo la presencia de haplotipos divergentes (Grant y Bowen, 1998), además el valor de D_T fue negativo, indicando una expansión reciente dentro de la especie (Tajima, 1989; Jacobo *et al.*, 2018). Por otro lado, los resultados de baja diversidad haplotípica y nucleotídica con ND2, indicaron un efecto fundador que concuerda con el proceso de domesticación (Grant y Bowen, 1998) (Tabla 7).

Jiang *et al* (2015), en sus estudios identificaron dos haplotipos, bajos valores de diversidad haplotípica y nucleotídica ($H_d=0.384$, $\pi=0.0037$), en dos granjas con un total 44 cerdos conservados de Lanyu, donde afirman que existen problemas de diversidad genética vinculada al pequeño tamaño de la población y el apareamiento incontrolado. Estudios de variedades de cerdos con supuesto origen ibérico al igual que el cerdo pelón mexicano, como el cerdo criollo cubano (Velázquez *et al*, 1998; Calderin, 2002) y el cerdo endémico brasileño (Cavalcanti, 2000; Carneiro *et al*, 2014) revelaron datos similares. Ramayo *et al.* (2011), analizaron 30 secuencias de cerdos procedentes de individuos de seis localidades en Cuba, donde detectaron 18 haplotipos, alta diversidad haplotípica (0.944) y nucleotídica (0.0056). Souza *et al.* (2009) identificaron seis haplotipos no reportados anteriormente y alta diversidad nucleotídica (0.0054), en un total de 62 muestras de cerdos en Brasil.

Los análisis de diversidad genética de la especie *S. scrofa* con Cytb y ND2, revelaron alta diversidad haplotípica y nucleotídica, indicando una población grande y estable con historia evolutiva antigua (Grant y Bowen, 1998).

Respecto a la diferenciación genética, el haplotipo (H1) detectado en cerdo pelón mexicano, y compartido con individuos domesticados y silvestres de origen asiático, mostró baja distancia genética (0.1%) con haplotipos de jabalí asiático y mayor distancia con jabalí europeo (1.3-

1.6%), indicando que esta línea materna (H1) proviene de un linaje asiático de *S. scrofa*. Jiang *et al* (2008) en sus análisis de distancias pareadas utilizando el marcador Cytb reportan distancias de 0.3% con respecto a razas asiáticas, sugiriendo que los cerdos nativos de Taiwán y las razas orientales son genéticamente son idénticas.

Por otro lado, los haplotipos H4, H40, H42 y H118 detectados en cerdo pelón mexicano mostraron baja distancia genética con los jabalíes de España, cerdo cubano, brasileño e Ibérico (0.1-0.4%), y una distancia mayor con jabalí Italiano (0.7-1%) y con jabalí asiático (1.5-1.8%) indicando su origen en un linaje de jabalí de España. Alves *et al.* (2003) en sus estudios de distancias genéticas de ADNmt entre cerdos ibéricos reportan distancias de 0.2%.

La distancia genética entre la línea materna asiática (H1) y las líneas maternas europeas (H4, H40, H42 y H118) de cerdo pelón mexicano fue similar a la detectada entre jabalí asiático y jabalí/cerdo de origen europeo (1.4%-1.8%). Estos resultados concuerdan con lo previamente descrito en otros estudios. Souza *et al.* (2009), detectaron linajes brasileños asiáticos y linajes brasileños europeos con una distancia genética de 1.6%. Fang *et al.* (2006), reportaron una distancia genética de 2.4% con el marcador Cytb entre cerdos de origen asiático y europeo. Alves *et al.* (2003), encontraron distancia genética de 1.5% con el marcador Cytb entre cerdo asiático e ibérico y entre cerdo asiático y jabalí español. Lemus *et al.*, (2001) y Lemus, (2008), reportan diferenciación genética entre las poblaciones de distintas áreas geográficas analizadas de cerdo pelón mexicano (costa del pacífico y costa del atlántico) indicando que son poblaciones únicas, que constan de linajes genéticos altamente distantes de las razas de cerdos modernos.

Se ha propuesto que el jabalí presenta tres subespecies; *S. scrofa meridionalis*, *S. scrofa lybicus*, *S. scrofa majori*) (Vernesi et al., 2003; Scandura et al., 2011). Sin embargo, nuestros resultados indican que no hay soporte para la presencia de subespecies en *S. scrofa*. Los haplotipos H135 detectado en un individuo de *S. scrofa meridionalis* y H133 detectado en *S. scrofa lybicus*, difieren solo mediante un paso mutacional de la línea materna H4 detectada en cerdo pelón mexicano, Ibérico, cubano, brasileño y jabalíes de origen italiano, español y asiático. Adicionalmente, el haplotipo H222 de *S. scrofa lybicus* diverge por un paso mutacional del H133. Las distancias genéticas entre la supuesta subespecie *S.scrofa meridionalis* y los haplotipos H4 y H42 es de 0.1%, la distancia entre *S. scrofa lybicus* y el haplotipo H4 es de 0.1% y la distancia entre el H222 de *S. scrofa lybicus* y H4 es de 0.2%. Nuestros resultados demuestran que los jabalíes y los cerdos domesticados pertenecen a linajes genéticos pero no

subespecies de *S. scrofa*, y es contrario a lo que sugieren Scandura *et al.*, (2011), quienes proponen que la cría intensiva y los cruces entre cerdos asiáticos y europeos ocurridos en los últimos dos siglos ha aumentado la divergencia genética entre los jabalíes y los cerdos domesticados.

Relaciones de haplotipos y sus frecuencias

Los resultados del análisis de las relaciones genéticas a través de redes de haplotipos de individuos domesticados o de domesticados y silvestres, corroboraron la presencia de diferentes linajes genéticos en la población de cerdo pelón mexicano de Yucatán. En la redes de haplotipos de Cytb de individuos silvestres y domesticados de *S. scrofa*, se detectaron cinco haplogrupos separados por pocos pasos mutacionales. Estos haplogrupos mostraron una relación con su localización geográfica; los haplogrupos HGI, HGIV y HGV están asociados a Asia y los haplogrupos HGII y HGIII están asociados a Europa. Se ha reportado el tiempo de divergencia entre las poblaciones asiáticas y europeas de *S. scrofa* y los resultados oscilan entre hace 58,000 años (Kim *et al.*, 2002) y 900,000 años (Giuffra *et al.*, 2000; Larson *et al.*, 2005; Fang y Andersson, 2006). Adicionalmente, los haplogrupos detectados presentan un haplotipo dominante y haplotipos periféricos, un patrón similar al de una estrella, consistente con una señal de expansión de la población (Fang y Andersson, 2006; Velickovic *et al.*, 2014). Estudios teóricos han demostrado que los cuellos de botella y las expansiones de la población tienen un efecto notorio en el patrón de polimorfismo genético entre los haplotipos (Rogers y Harpending, 1992 y Harpending, 1994). La expansión también fue apoyada por los valores D negativos de Tajima que alcanzaron significancia estadística.

El haplotipo H1 con origen asiático y compartido por jabalí asiático, cerdo domesticado asiático y cerdo pelón mexicano, presentó la mayor frecuencia y distribución mundial, sugiriendo que pertenece al fondo genético más antiguo de la domesticación del cerdo en Asia. La presencia de esta línea materna en el cerdo pelón, sugiere la introducción de linajes de cerdo domesticado asiático y europeo en Yucatán. En esta misma situación se encuentran los haplotipos H2, H9 y H10 de cerdos y jabalíes asiáticos que están compartidos con cerdo domesticado brasileño, y la presencia de varios haplotipos asiáticos en razas de cerdos españoles.

La línea materna H4 de cerdo pelón mexicano es el haplotipo dominante del haplogrupo HGII con alta frecuencia y distribución en Europa; está compartido por cerdo pelón mexicano, Ibérico,

cubano, brasileño y por jabalíes de origen italiano y español. Sin embargo, este haplotipo también está compartido por cerdo y jabalí de origen asiático (China y Corea), indicando su origen en esta área geográfica. Del haplotipo dominante H4 se originó el haplotipo dominante H40 del haplogrupo HGIII compartido por cerdo pelón mexicano, cerdo ibérico, cerdo brasileño, cerdo cubano, cerdo coreano y jabalí español, lo que sugiere su importancia en el fondo genético del cerdo domesticado español. El haplotipo H42 derivado del haplotipo H40 a través de un paso mutacional, es compartido por cerdo pelón mexicano, cerdo Ibérico y Cubano, indicando su origen Ibérico e introducción en Cuba y México durante la colonia española. Por otro lado, los haplotipos H118 de cerdo pelón mexicano y H45 de cerdo cubano, son derivados del haplotipo dominante H42 (HGIII) y exclusivos para estas dos poblaciones. Sin embargo, es probable que estén compartidos por otras poblaciones de cerdo en España y Latinoamérica.

Estos resultados contrastan con los de Clop *et al.* (2004), quienes proponen que las razas de cerdo Ibérico solo presentan haplotipos europeos. De acuerdo a estos investigadores, la introgresión con haplotipos asiáticos no afectó a las razas españolas locales, como el cerdo negro ibérico, debido a que en su estudio no encontraron haplotipos occidentales de Cytb. Ramirez *et al.* (2009) mencionan la existencia de rutas comerciales españolas y portuguesas que conectaron entre Asia y Europa, lo que pudo haber favorecido la introducción del cerdo asiático a los países occidentales. Por otro lado, se ha reportado un flujo genético del continente asiático al europeo como resultado de mejorar las razas occidentales coherente con la introgresión conocida de haplotipos orientales a España en los siglos XVIII y XIX (Jones *et al.*, (1998); Giuffra *et al.*, (2000); Larson *et al.*, (2005); Fang y Andersson, (2006) y Khederzadeh *et al.*, (2019). También existe la propuesta de que los colonizadores españoles podrían haber mezclado posteriormente las poblaciones fundadoras de cerdos ibéricos traídos a América en el siglo XV con cerdos de origen asiático originando la introgresión asiática en cerdos pelones mexicanos (Porter *et al.*, 1993).

Los resultados de otros estudios realizados través de redes de haplotipos de Cytb, concuerdan en que el cerdo cubano tiene un origen predominantemente Ibérico, sin embargo, también han revelado la introgresión con haplotipos provenientes del continente asiático (Velázquez *et al.*, 1998; Ramayo *et al.*, 2011). Souza *et al.* (2009), realizaron estudios similares utilizando Cytb, detectando un haplotipo de alta frecuencia compartido por cerdo brasileño, razas europeas y

cerdo Ibérico, del cual se deriva otro haplotipo con menor frecuencia compartido por cerdos brasileños e Ibéricos.

El haplotipo dominante H32 del haplogrupo HGIV, compartido con alta frecuencia por cerdos domesticados de China y en menor frecuencia por jabalí de origen oriental (Vietnam, Taiwán, Indonesia, Japón, China y Rusia), aparentemente deriva del haplotipo H1 (HGI) con un paso mutacional, sin embargo, presenta polígonos con otros haplotipos indicando ausencia de haplotipos no identificados. También se observan haplotipos como el H83 compartido por cerdo (China) y jabalí asiáticos (Vietnam y China), del cual se derivan los haplotipos H35 y H39 detectados en cerdos domesticados chinos. Este resultado sugiere que la domesticación ocurrió con diferentes linajes fundadores y probablemente en diferentes localidades asiáticas.

Se ha propuesto la expansión demográfica del jabalí y el cerdo domesticado debida a centros de domesticación múltiple, al cambio climático, el número reducido de especies depredadoras, destrucción del hábitat, liberaciones intencionales con fines de caza deportiva y la hibridación bidireccional entre ambos debida a la superposición de rangos de poblaciones silvestres y domésticas. La amplia distribución haplotipos en las poblaciones de cerdos domesticados y jabalíes es consecuencia de las actividades antropogénicas, los humanos han favorecido los contactos entre poblaciones previamente alopáticas, ya sean domesticadas o silvestres Allendorf *et al.*, (2001); Bieber y Ruf, (2005); Scandura *et al.*, (2008); Scandura *et al.*, (2011); Sprem *et al.*, (2014); Massei *et al.*, (2015); Lacolina *et al.*, (2018) y Ribani *et al.*, (2019).

El haplogrupo HGV fue integrado exclusivamente por haplotipos silvestres de Indonesia con el haplotipo dominante H136 y cinco haplotipos periféricos producto de una expansión. Finalmente en la red se observa la formación de varios polígonos y haplotipos hipotéticos, lo que denota la ausencia de un gran número de haplotipos no detectados.

En las redes de haplotipos elaboradas con el marcador ND2 los cerdos domesticados y los jabalíes comparten siete haplotipos o líneas maternas, las redes se caracterizan por el mismo patrón genético demográfico que las elaboradas con el marcador Cytb. Sin embargo, tienen menor resolución y haplotipos hipotéticos, debido a la ausencia de datos en el análisis, ya que en bases de datos no se encuentran reportadas muchas secuencias del marcador ND2.

Relaciones filogenéticas y genealógicas

De manera preliminar, el análisis filogenético bajo IB y ML del género *Sus* a través de Cytb y 16S, permitió establecer la monofilia de la especie *Sus scrofa*, donde el haplotipo H42 se agrupó con jabalí europeo. Por otro lado, en el análisis de relaciones genealógicas de *S. scrofa* bajo IB y ML utilizando el marcador Cytb (Figura 10), la topología de los árboles mostró una politomía suave que indica relación cercana entre los haplotipos (Jacobó *et al.*, 2018), y tres clados principales. Destaca que el C1 está compuesto por secuencias de jabalíes italianos, sin embargo es un clado no resuelto donde faltan datos que pueden cambiar la posición del clado. De acuerdo a algunos estudios filogeográficos del jabalí, los ejemplares italianos representan linajes maternos antiguos y únicos en el centro de Italia, sugiriendo que la península italiana sirvió como refugio durante las glaciaciones del Pleistoceno (LGM-Last Glacial Maximum) hace 23,000-16,000 años. Los análisis filogenéticos revelan que estos linajes son basales a las otras secuencias europeas de ADNmt y se separan de las demás poblaciones (Larson *et al.*, 2005; Scandura *et al.*, 2008; Velickovic *et al.*, 2015; Maselli *et al.*, 2016; Khaderzadeh *et al.*, 2019). El C2 con una politomía suave donde encontramos a un haplotipo de cerdo pelón mexicano y algunos subclados que corresponden a las expansiones observadas en la red de haplotipos; incluyó a los haplogrupos HGII y HGIII donde encontramos tres haplotipos de cerdo pelón mexicano, y otros haplotipos de jabalíes europeos y asiáticos, cerdos europeos y Americanos. El C3 también mostró una politomía suave donde encontramos al haplotipo H1 detectado en cerdo pelón mexicano, y varias expansiones o subclados que corresponden con los haplogrupos HGI, HGIV y haplotipos periféricos, algunos de los cuales sufrieron divergencia y formaron pequeños haplogrupos que correspondieron con los subclados SCIV, SCVI, SCVII, SCVIII, SCIX, SCX y SCXI HGV, además de otros haplotipos, principalmente de jabalíes y cerdos de origen asiático. Nuestros resultados son relativamente congruentes con los de Vilaça *et al.*, (2014) quienes proponen la existencia de un clado mitocondrial europeo (E1), un clado endémico en Italia (E2) y algunos haplotipos de Asia oriental (A). Alves *et al.*, (2003), reportaron un clado europeo principal que incluye todos los cerdos ibéricos y jabalíes españoles y la mayoría de los cerdos europeos, un clado que incluye un jabalí italiano y un clado integrado por cerdo asiático. Adicionalmente, Canul *et al.*, (2005), reportaron tres grupos principales, un clado asiático, un clado europeo y un clado encontrado solo en Italia. Ni, *et al.*, (2018), realizaron un árbol genealógico bajo IB utilizando el genoma mitocondrial completo de

secuencias de jabalíes y cerdos domesticados, donde se observa la división de dos clados principales, un clado europeo y un clado asiático, y sugieren que han ocurrido eventos intensivos de flujo de genes entre ambos cerdo y jabalíes después de la domesticación.

En el C3, la línea materna H81 perteneciente a cerdos Lanyu originarios de Taiwan se posiciona basal. Este resultado también se soporta en análisis genealógico bajo ML con el marcador Cytb, donde el cerdo Lanyu es basal y distinto a cerdos comerciales de origen asiático y europeo (Jiang *et al.*, 2009; Chang *et al.*, 2009). En el estudio genealógico realizado bajo IB, el ADNmt completo de cerdo Lanyu también es basal en un clado asiático con una PP=1 (Ni *et al.*, 2018). En el C3, también destaca el SCII que corrobora la expansión del haplogrupo HGV integrado por haplotipos de jabalíes procedentes de Indonesia estrechamente relacionados, derivado del haplotipo H176 de jabalíes de origen chino y vietnamita. El SCIII, corresponde a haplotipos de jabalíes japoneses cercanamente relacionados.

No existen estudios previos de relaciones genealógicas de *S. scrofa* utilizando el marcador ND2, sin embargo, a pesar de la menor cantidad de datos integrados en el análisis, la topología del árbol bajo ML mostró dos clados principales que corroboran el análisis con Cytb. En el C1 el haplotipo dominante H1 del haplogrupo HGIII compartido por cerdo pelo mexicano e Ibérico y el haplotipo dominante H2 del haplogrupo HGII compartido por cerdo pelón mexicano, cerdo y jabalí europeo y cerdo y jabalí asiático, se agruparon con haplotipos de cerdo europeo y asiático. En el C2 el haplotipo dominante H3 (y con la mayor frecuencia detectada) del haplogrupo HGI, compartido por cerdo pelón mexicano y cerdos y jabalíes asiáticos, se encuentra en una politomia suave con haplotipos cercanamente relacionados que correspondieron a los periféricos del HGI, además de subclados relacionados con las expansiones derivadas de H3.

X. PERSPECTIVAS Y/O RECOMENDACIONES

Se pretende profundizar en el análisis de los polimorfismos del ADNmt utilizando los marcadores Región Control (RC) y Citocromo oxidasa I (COI), para identificar nuevas líneas maternas.

Se deberá aumentar el rango de muestreo en el estado de Yucatán y si es posible adquirir muestras de cerdo pelón mexicano de los estados Quintana Roo y Campeche.

Para potenciar el valor de los datos moleculares obtenidos sería prudente obtener resultados mediante secuencias nucleares (microsatélites) para continuar la descripción y el análisis filogeográfico de *Sus scrofa* y esclarecer el grado de introgresión y flujo genético entre los cerdos domésticos y salvajes.

XI. CONCLUSIONES

- El cerdo pelón mexicano de Yucatán presenta alta diversidad genética.
- Los análisis genealógicos revelaron que la población analizada proviene de un linaje asiático y linajes europeos/asiáticos.
- En el linaje europeo/asiático del que proviene el cerdo pelón mexicano también se encuentra el cerdo Ibérico.
- Los cerdos domesticados y los jabalíes comparten haplotipos de varios linajes genéticos, dentro de una población grande y estable con una historia antigua.
- La domesticación de los cerdos ocurrió a partir de diferentes linajes de jabalí y probablemente en diferentes sitios en Asia.

XII. LITERATURA CITADA

- Al-Samarai, F. y Al-Kazaz, A. 2015. Molecular Markers: an Introduction and Applications. *European journal of molecular biotechnology*. Vol. 9: 118-130.
- Alves, E., Óvilo, C., Rodríguez, M.C. and Silió, L. 2003. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogenetic relationships among Iberian pigs and other domestic and wild pig populations. *Animal Genetics*, 34: 319-324.
- Allendorf, F., Leary R., Spruell, P., Wenburg, J. 2001. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends in Ecology and Evolution* 16: 613–622.
- Anderson, S. 2003. Animal genetic resources and sustainable livelihoods. *Ecological Economics*, 45(3), 331-339.
- Aranguren, J., Roman, R., Isen, W. y Jordana, J. 2004. Microsatellites (STR's), ADN molecular markers for excellency for conservation programs: A review. *Researchgate*.
- Avise, J. 2009. Phylogeography: Retrospect and prospect. *Journal of Biogeography* 36: 3–15.
- Ball, R., & Avise, J. 1992. Mitochondrial DNA Phylogeographic Differentiation among Avian Populations and the Evolutionary Significance of Subspecies. *The Auk*, 109(3), 626-636.
- Bandelt, J., Forster, P. y Roehl, A. 1999. Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16 (1): 37-48.
- Bieber, C. y Ruf, T. 2005. Population dynamics in wild boar *Sus scrofa*: Ecology, elasticity of growth rate and implications for the management of pulsed resource consumers. *Journal of Applied Ecology*, 42, 1203–1213.
- Blier, P., Dufresne, F. y Burton, R. 2001. Natural selection and the evolution of mtDNA-encoded peptides: evidence for intergenomic co-adaptation. *Trends in Genetics*. 17, 400-406.
- Bradley D., MacHugh D., Cunningham P. y Loftus R. 1996. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93, 5131–5.
- Bronstein, O., Kroh, A. y Haring, E. 2018. Mind the gap! The mitochondrial control región and its power as a phylogenetic marker in echinoids. *BMC Evolutionary Biology*. 18:80
- Bruford, M., Bradley, D. y Luikar, G. 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nature*. 4, 900-910

- Burton, R. 2009. Molecular Markers, Natural History, and Conservation of Marine Animals. *American institute of biological sciences*. 59, 831-840.
- Camacho, C., Gutiérrez, C., Arechavaleta, M., Díaz, L., Arechavaleta, F., Martínez, R., Lemus, C. y Alonso, R. 2008. Características endocrinas, moleculares y de parámetros de crecimiento asociados a la obesidad del cerdo pelón Mexicano. *Técnica Pecuaria en México*, 46 (4), 345-357.
- Candelaria, B., Ramirez, M., Bañuelos, C. y Jimenez J. 2016. Recursos genéticos criollos de zonas rurales de Campeche, Mexico. *Agroproduktividad*. Vol.9:29-52.
- Canul, S., Sierra, V., Martinez, M., Ortiz, O., Delgado, J., Vega-Pla, J. y Perez, G. 2005. Genetic characterization of the mexican Hair-less pig by means of molecular markers. *Archivos De Zootecnia*, 206, 267.
- Cen, V., Sierra, A., Alonso, R., Zamora, R., Ortiz, J., y Reyes, A. 2011. Caracterización del gen SLA-DQB en el cerdo pelón de Yucatán, México. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*, 1, 184–186.
- Clop, A., Amills, M., Noguera, J., Fernández, A., Capote, J. y Ramón, M. 2004. Estimating the frequency of Asian cytochrome B haplotypes in standard European and local Spanish pig breeds. *Genet Sel Evol*: 36(1): 97–104.
- Chang, W., Chu, H., Jiang, Y., Li, S., Wang, Y., Chen, C. y Ju, Y. 2009. Genetic variation and phylogenetics of Lanyu and exotic pig breeds in Taiwan analyzed by nineteen microsatellite markers. *Journal of Animal Science*, 87(1), 1–8.
- Delgado, J., Camacho, M., León J., de la Haba, M., Vallecillo, A., Barba, C. y Cabello, A. 2004. Poblaciones porcinas de Iberoamérica. *Biodiversidad porcina Iberoamericana*. p. 21–32.
- Di Rienzo, A. y Wilson, A. 1990. Branching pattern in the evolutionary tree for human mitochondrial DNA. *Evolution*. Vol. 88: 1597-1601.
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S., 2005. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform*. Online 1, 47–50
- Fan, B., Wang, Z., Li, Y., Zhao, X., Liu, B., Zhao, S., Yu, M., Li, M., Chen, S., Xiong, T. y Li, K. 2002. Genetic variation analysis within and among Chinese indigenous swine populations using microsatellite markers. *Animal Genetics*, 33: 422-427.

- Fang, M. y Andersson, L. 2006. Mitochondrial diversity in European and Chinese pigs is consistent with population expansions that occurred prior to domestication. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1595), 1803–1810.
- FAO. 2010. “La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura-Marcadores moleculares: una herramienta para explorar la diversidad genética” <http://www.fao.org/3/a1250s/a1250s00.htm> (Acceso en Enero de 2020).
- FAO. 2001. “Los recursos zoogenéticos una red de seguridad para el futuro”. http://www.fao.org/fileadmin/templates/nr/documents/CGRFA/factsheets_animal_es.pdf (Accesado en Enero del 2020).
- FAO. 2007. “Plan de acción mundial sobre los recursos zoogenéticos y la declaración de Interlaken” <http://www.fao.org/3/a1404s/a1404s00.htm> (Accesado en Enero del 2020).
- Fitz-Simmons, N. 1997. Male marine turtles: Gene flow, philopatry and Mating systems of the green turtle *Chelonia mydas*. Tesis doctoral, Universidad de Queensland, Australia.
- Fluxus Technology. 2012. Network (v. 4.6.1.1). Disponible en <http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm>.
- Fonseca, R., Johnson, W., Brien, S., Ramos, M. y Antunes, A. 2008. The adaptive evolution of the mammalian mitochondrial genome. *BioMed Central*. 9:119, 1-22
- Frantz, A., Zachos, F., Kirschning, J., Cellina, S., Bertouille, S., Mamuris, Z., Koutsogiannouli, E. y Burke, T. 2013. Introgression Between Pigs and Boars. *Biol J Linn Soc Lond*, 110: 104-115.
- Galtier, N., Nabholz, B., Glemin, S y Hurst, G. 2009. Mitochondrial DNA as a marker molecular diversity: a reappraisal. *Molecular Ecology*. 18, 4541-4550.
- Giuffra, E., Kijas, J., Amarger, V., Carlborg, O., Jeon, J. y Andersson, L. 2000. The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression. *Genetics* 154: 1785–1791.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98.
- Harpending, H. 1994. Signature of ancient population growth in a low resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Hum. Biol.* 66, 591–600.

- Huerta, H., Mendez, M., Pardo, C. 2015. El cerdo criollo mexicano en peligro de extinción, *Revista computarizada de produccion porcina*. Volumen 22 (1).
- Hurtado, E. 2006. El cerdo criollo en Venezuela. Status actual y perspectivas. *Rev. Comp. Prod. Porcina*, 13: 26-29
- Jacobo, G., Monterrubio, T., Cano, H. y Zavala, G. Demographic history of the orange-fronted parakeet (*eupsittula canicularis*) in México. *Ornitología Neotropical*, [S.l.], v. 29, p. 323-336
- Jiang, Y., Wu, C., Huang, C., Chu, H., Ke, M., Kung, M. y Ju, Y. 2008. Interpopulation and intrapopulation maternal lineage genetics of the Lanyu pig (*Sus scrofa*) by analysis of mitochondrial cytochrome b and control region sequences. *Journal of Animal Science*, 86(10), 2461–2470.
- Jones, G. 1998. Genetic aspects of domestication, common breeds and their origin. In *The genetics of the pig* (ed. M. F. Rothschild & A. Ruvinsky), pp. 17–50. Wellingford, Oxon: CAB International.
- Kelly, L., Crop, A., Vadell, A., Nicolini, P., Monteverde, S., Amills, M., Sanchez, A. 2004. El cerdo pampa rocha como recurso zoogenéticos en Uruguay. *Marcadores moleculares. Veterinaria* : 39 (155-156): 15-16.
- Khederzadeh, S., Kusza, S., Huang, C. 2019. Maternal genomic variability of the wild boar (*Sus scrofa*) reveals the uniqueness of East-Caucasian and Central Italian populations. *Ecol Evol*; 9: 9467– 9478.
- Kim, K., Lee, J., Li, K., Zhang, Y., Lee, S., Gongora, J. y Moran, C. 2002. Phylogenetic relationships of Asian and European pig breeds determined by mitochondrial DNA D-loop sequence polymorphism. *Anim Genet*. 33:19–25.
- Larson, G., Dobney, K., Albarella, U., Fang, M., Matisoo-Smith, E., Robins, J., *et al.* 2005. Worldwide phylogeography of wild boar reveals multiple centres of pig domestication. *Science* 307, 1618–1621.
- Lavrov, D. y Pett, W. 2016. Animal mitochondrial DNA as we not know it: mt-genome organization and evolution in nonbilaterian lineages. *Genome Biol. Evol.* 8(9): 2896-2913.

- Lemus, C. 2008. Diversidad genética del cerdo criollo mexicano. *Genética de cerdos criollos mexicanos. Revista computarizada de producción porcina*. Volumen 15 (Numero 1).
- Lemus, C., Ulloa, R., Ramos, M., Estrada, F. y Alonso, R. 2001. Genetic analysis of Mexican hairless pig populations. *Journal of Animal Science*, 79(12), 3021–3026.
- Librado, P. y J. Rozas. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 1451-1452.
- Lin, C., Sun, Y., Liu, C., Yang, P., Chang, L., Cheng, I., Mao, S. y Huang, M. 1999. Complete nucleotide sequence of pig (*Sus scrofa*) mitochondrial genome and dating evolutionary divergence within Artiodactyla. *Gene*. Vol.236: 107-114.
- Luikart, G., Gielly, L., Excoffier, L., Vigne, J., Bouvet, J. y Taberlet, P. 2001. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*:98, 5927–32.
- Martínez, G., Iván, S., Ponce, R., Vélez, A., Cabrera, E., Cantú, A. y Silva, M. 2016. Morfometría del cerdo de traspatio en áreas rurales de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 7(4), 431–440.
- Maselli, V., Ripa, D., Deluca, A., Larson, G., Wilkens, B., Linderholm, A. y Fulgione, D. 2016. Southern Italian wild boar population, hotspot of genetic diversity. *Hystrix the Italian Journal of Mammalogy*, 27(2), 1–8.
- Massei, G. y Genov, P. 2004. The environmental impact of wild boar. *Galemys*, 16, 135–145.
- Méndez, R., Becerril, M., Rubio, M. y Delgado, E. 2002. Características de la canal del cerdo Pelón Mexicano, procedente de Mizantla, Veracruz, México. *Veterinaria México*, 33 (1), 27-37.
- Michikawa, Y., Mazzucchelli, F., Bresolin, N., Scarlato, G y Attardi, G. 1999. Aging-Dependent Large Accumulation of Point Mutations in the Human mtDNA Control Region for Replication. *Science*. Vol. 286
- Mishmar, D., Ruiz, E., Golk, P., Macaulay, V., Clark, A., Hosseini, S., Brandon, M., Easley, K., Chen, E., Brown, M., Sukernik, R., Olckers, A. y Wallace, C. 2003. Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans. *PNAS*, Vol. 100:1
- Molnár, J., Tóth, G., Stéger, V., Zsolnai, A., Jánosi, A., Mohr, A. y Marincs, F. 2013. Mitochondrial D-loop analysis reveals low diversity in Mangalica pigs and their

- relationship to historical specimens. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 130(4), 312–320.
- Mona, S., Randi, E. y Tommaseo-Ponzetta, M. 2007. Evolutionary history of the genus *Sus* inferred from cytochrome b sequences. *Molecular phylogenetics and evolution*. 45: 757-762. .
- Moreno, J. 1996. El cerdo. Historia de un elemento esencial de la cultura castellana en la conquista y colonización de América (siglo XVI). *Revistas CSIC*, Tomo LIII, I.
- Ni, P., Bhuiyan, A., Chen, J., Li, J., Zhang, C., Zhao, S. y Li, K. 2018. De novo assembly of mitochondrial genomes provides insights into genetic diversity and molecular evolution in wild boars and domestic pigs. *Genetika*, 146(3), 277–285.
- Porter, V. 1993. *Pigs: A Handbook to the Breeds of the World*, Cornell University, Ithaca, New York.
- Ramayo, Y., Pérez, E., Pérez, M. y Ramos, O. 2011. Variabilidad nucleotídica y estructura poblacional en cerdos criollos cubanos. XIV Jornadas sobre producción animal, Tomo II, 521-523.
- Rambaut, A. 2012. “FigTree v 1.3.1” <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/> (Accesado en Enero del 2020).
- Ramirez, O., Ojeda, A., Tomas, A., Gallardo, D., Huang, L., Folch, J. y Amills, M. 2009. Integrating Y-chromosome, mitochondrial, and autosomal data to analyze the origin of pig breeds. *Molecular Biology and Evolution*, 26, 2061–2072.
- Randi, E. 1995. Conservation genetics of the genus *Sus*. *Ibex*: 6-12
- Randi, E., Lucchini, V., Diong, C.H., 1996. Evolutionary genetics of the Suiformes as reconstructed using mtDNA sequencing. *J. Mamm. Evol.* 3, 163–193.
- Raza, S., Shoaib, M. y Mubeen, H. 2016. Genetic Markers: importance, uses and applications. *International journal of scientific and research publications*. Vol. 6 2250:3153.
- Ribani, A., Utzeri, V., Geraci, C., Tinarelli, S., Djan, M., Veličković, N. y Fontanesi, L. 2019. Signatures of de-domestication in autochthonous pig breeds and of domestication in wild boar populations from MC1R and NR6A1 allele distribution. *Animal Genetics*, 50(2), 166–171.

- Rocha, A. y Sandoval, J. 2003. Diversidad mitocondrial y estructura genética en poblaciones alopátricas del huachinango del Pacífico Lutjanus peru. *Ciencias Marinas*, 29(2), 197–209.
- Rodero, A., Delgado, J. y Rodero E. 1992. Primitive Andalusian livestock and their implications in the discovery of America. *Arch Zootec.* 41:383–400.
- Rogers, A. y Harpending, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol. Biol. Evol.* 9, 552–569.
- Ronquist, F. y Huelsenbeck, J. 2003. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 19:1572-1574.
- SAGARPA. 2007. “Informe sobre la situación de los recursos genéticos pecuarios de México. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación” (Accesado en Enero del 2020).
- Salamanca, A. y Rodriguez, L. 2014. Los recursos zoogenéticos y el desarrollo sostenible en sabanas inundables de Arauca (Colombia). *Sitio Argentino de Producción Animal*: 1-7
- Sanger, F., Nicklen, S. y Coulson, A. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. USA 74: 5463-5467.
- Sarabia, A., Flores, C., Martínez, K., Carpena, J., Benítez, M. y Serrano, A. 2011. Diversidad genética en cerdos criollos mexicanos con genes candidatos asociados a características productivas. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 46(1), 44–50.
- Scandura, M., Lacolina, L. y Apollonio, M. 2011. Genetic diversity in the European wild boar *Sus scrofa*: Phylogeography, population structure and wild x domestic hybridization. *Mammal Review*, 41, 125–137.
- Scandura, M., Lacolina, L., Cossu, A. y Apollonio, M. 2011. Effects of human perturbation on the genetic make-up of an island population: the case of the Sardinian wild boar. *Heredity* 106: 1012–1020.
- Scandura, M., Lacolina, L., Crestanello, B., Pecchioli, E., Di Benedetto, M., Russo, V. y Bertorelle, G. 2008. Ancient vs. recent processes as factors shaping the genetic variation of the European wild boar: Are the effects of the last glaciation still detectable? *Molecular Ecology*, 17, 1745–1762.
- Scarpa, R., Drucker, A., Anderson, S. y Ferres-Ehuan, N. 2003. Valuing genetic resources in peasant economies: the case of hairless creole pigs in Yucatan. *Journal of Ecological Economics* 45: 427-443.

- Sierra, A. 2000. Conservación genética del cerdo pelón mexicano en Yucatán y su integración a un sistema de producción sostenible. *Archivos De Zootecnia*, 415–421.
- Sierra, A., Poot, T., Díaz, Z., Cordero, A. y Delgado, J. 2005. El cerdo pelón mexicano, una raza en peligro. *Archivos de Zootecnia*, 54, 165–170.
- Souza, C., Paiva, S., Pereira, R., Guimarães, S., Dutra Jr, W., Murata, L. y Mariante, A. 2009. Iberian origin of Brazilian local pig breeds based on Cytochrome b (*MT-CYB*) sequence. *Animal Genetics*, 40: 759-762.
- Sprem, N., Salajpal, K., Safner, T., Đikić, D., Jurić, J., Curik, I. y Cubric-Curik, V. 2014. Genetic analysis of hybridization between domesticated endangered pig breeds and wild boar. *Livestock Science*, 162, 1–4.
- Stamatakis, A., Ludwig, T. y Meier, H. 2004. RAxML-III: a fast program for maximum likelihood-based inference of large phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 21(4), 456-463.
- Sunnucks, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Elsevier Science*. Vol. 15
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123, 585–595.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. y Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30:2725-2729.
- Torres, A., Ramírez, E., Méndez, D., Olea, R., Berruecos, V., López, J. y Córdova, A. 2005. Fertilidad y prolificidad en cerdas Pelón Mexicano y blancas mejoradas tratadas con gonadotropinas. REDVET. *Revista Electrónica de Veterinaria*, VI (2): 1-5.
- Ursing, B. y Arnason, U. 1998. The complete mitochondrial DNA sequence of the pig (*Sus scrofa*). *Molecular Evolution*. Vol.47: 302-306.
- Varshney, R., Graner, A. y Sorrells, E. 2005. Genetic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends in Biotechnology*. Vol. 23: No.1
- Velázquez, F., Barba, E., Perez, E. y Delgado, J. 1998. El cerdo negro criollo cubano; Origen, evolución y situación actual. *Arch. Zootec.* 47: 561-564.
- Veličković, N., Djan, M., Ferreira, E., Stergar, M., Obreht, D., Maletic, V. y Fonseca, C. 2015. From north to south and back: The role of the Balkans and other southern peninsulas in the recolonization of Europe by wild boar. *Journal of Biogeography*, 42, 716–728.

- Vernesi, C., Crestanello, B., Pecchioli, E., Tartari, D., Caramelli, D., Hauffe, H., Bertorelle, G. 2003. The genetic impact of demographic decline and reintroduction in the wild boar (*Sus scrofa*): a microsatellite analysis. *Molecular Ecology* 12:585–595.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L. y Miller, W. 2000. A Greedy Algorithm for Aligning DNA Sequences. *Journal of Computational Biology*. 7:203-14.