

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias



**"EVALUACIÓN DE GENES CANDIDATOS POR PCR-RFLP PARA
CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS EN HEMBRAS PORCINAS"**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS EN EL ÁREA
DE CIENCIAS ZOOTECNICAS Y VETERINARIAS**

Presenta:

M.V.Z. SILVIA HORTENCIA HERNÁNDEZ LÓPEZ

Tutor: **Dr. Clemente Lemus Flores**
Asesores: **Dr. Rogelio Alonso Morales**
Dr. José Guadalupe Herrera Haro



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS

Tepic, Nayarit., 21 de Febrero de 2006

DR. C. ARTURO AGUIRRE HERNÁNDEZ
COORDINADOR DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO-AGROPECUARIAS CBAP
P R E S E N T E

Los suscritos C. Dr. Clemente Lemus Flores, Dr. Rogelio Alonso Morales, Dr. José Guadalupe Herrera Haro, integrantes del consejo tutelar para revisar, ordenar y asesorar la tesis de Maestría en Ciencias del Posgrado en Ciencias Biológico-Agropecuarias, titulada: "Evaluación de genes candidatos por PCR-RFLP para características reproductivas en hembras porcinas".

Que presenta ante el honorable jurado calificador C.M.V.Z.

SILVIA HORTENCIA HERNÁNDEZ LÓPEZ

Comparecemos para manifestar que después de revisar su presentación y contenido, no existe inconveniente para continuar con los trámites legales de este proceso de obtención de Maestría en el área de Ciencias Zootécnicas y Veterinarias, por estar de acuerdo en los aspectos de forma y contenido.

ATENTAMENTE
CONSEJO TUTELAR


DR. CLEMENTE LEMUS FLORES


DR. ROGELIO ALONSO MORALES


DR. JOSÉ GUADALUPE HERRERA HARO

C.c.p.- Interesado

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Nayarit

Que me formó en la licenciatura y en la maestría y a la que le tengo un gran cariño y lealtad

Al COCYTEN

Por ser un apoyo importante en la última etapa de la realización de la tesis

Al maestro Fco. Javier Castellón Fonseca

Por la confianza depositada en mi persona y por su incalculable apoyo

Al Dr. Clemente Lemus Flores

Porque con su ejemplo me ha conducido por el camino de la superación profesional y personal... ¡Gracias Doctor!

A mis asesores: Dr. Lemus Flores, Dr. Alonso Morales y Dr. Herrera Haro

Por sus conocimientos transmitidos y por sus valiosas sugerencias para el enriquecimiento del presente trabajo de investigación

A mi esposo:

Por su paciencia, su comprensión, por motivarme en todo momento y luchar conmigo en este proyecto

A mis padres y hermanos:

Por estar siempre pendientes, por sus palabras de aliento en los momentos de duda y por quienes día a día me he de superar para brindarles lo mejor de mí

A mis grandes amigos: Germán, Mónica y Carmen

Por su apoyo incondicional en la realización de mi trabajo experimental y por su valiosa amistad

To my English friends: Mela, Bibi, Laura and Fernando

For to share with me their time and their friendship

A mis amigos de la UNAM: Amanda, Félix, Tamara, Alex, Pepe Toño

Por compartir conmigo sus conocimientos y por su ser mi familia sustituta en el gran Distrito Federal

A mis compañeros y maestros de la maestría

Por el tiempo que pasamos en las aulas compartiendo experiencias y conocimientos, a todos ellos gracias por su valiosa compañía

A Dios

Por ser mi guía, por darme fortaleza en los momentos que creí desfallecer y por permitirme llegar a la etapa final de la maestría

ÍNDICE

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	i
INDICE	iii
RELACIÓN DE FIGURAS Y FOTOGRAFÍAS	vii
RELACIÓN DE CUADROS	viii
RESUMEN	x
SUMMARY	xii
I.- INTRODUCCIÓN	1
1.1. Hipótesis	4
1.2. Objetivo general	4
1.2.1. Objetivos específicos	4
II.- REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. Potencial productivo de la cerda de pie de cría	5
2.2. Métodos de selección para el mejoramiento genético	8
2.2.1. El método de selección tradicional	10
2.2.2. Selección asistida por marcadores de ADN	12
2.2.2.1. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	16
2.2.2.2. Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)	18
2.2.2.3. Polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP)	19

2.2.2.4. Amplificados polimorficos de ADN al azar (RAPD)	20
2.2.2.5. Microsatélites	21
2.3. Genes candidatos relacionados con características reproductivas	22
2.4. Genes candidatos relacionados con resistencia a enfermedades en cerdos	30
III.- MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1. Localización	33
3.2. Grupos de animales	33
3.3. Obtención de la muestras	35
3.4. Purificación de ADN genómico	35
3.5. Electroforesis	36
3.6. Cuantificación de ADN	37
3.7. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	37
3.8. Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)	39
3.9. Diagnostico de genotipos	40
3.10. Análisis Estadístico	44
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
4.1. Frecuencias génicas y genotípicas	47
4.1.1. Gen ESR	47
4.1.2. Gen PRLR	50
4.1.3. Gen FUT1	52
4.1.4. Gen RBP4	54

4.2. Distancias genéticas y árboles filogenéticos	56
4.3. Contrastes Ortogonales	63
4.3.1. Contrastes Ortogonales para analizar el gen ESR	63
4.3.1.1. Análisis para genotipos encontrados en el gen ESR	63
4.3.1.2. Análisis para genotipos del ESR dentro de niveles de producción	65
4.3.1.3. Análisis para genotipos del ESR dentro de grupos de paridad y nivel de producción	67
4.3.2. Contrastes Ortogonales para analizar el gen PRLR	70
4.3.2.1. Análisis para genotipos encontrados en el gen PRLR.....	70
4.3.2.2. Análisis para genotipos del PRLR dentro de niveles de producción	72
4.3.2.3. Análisis para genotipos del PRLR dentro de grupos de paridad y nivel de producción	74
4.3.3. Contrastes Ortogonales para analizar el gen FUT1	78
4.3.3.1. Análisis para genotipos encontrados en el gen FUT1	78
4.3.3.2. Análisis para genotipos del FUT1 dentro de niveles de producción	80
4.3.3.3. Análisis para genotipos del FUT1 dentro de grupos de paridad y nivel de producción	81
4.3.4. Contrastes Ortogonales para analizar el gen RBP4	84
4.3.4.1. Análisis para genotipos encontrados en el gen RBP4	84
4.3.4.2. Análisis para genotipos del RBP4 dentro de niveles de	

producción	86
4.3.4.3. Análisis para genotipos del RBP4 dentro de grupos de paridad y nivel de producción	88
V. CONCLUSIONES	91
5.1. Gen ESR	91
5.2. Gen PRLR	91
5.3. Gen FUT1	92
5.4. Gen RBP4	92
VI. LITERATURA CITADA	94

RELACIÓN DE FIGURAS Y FOTOGRAFÍAS

Figura 1. Respuesta a corto y largo plazo de la selección asistida por marcadores de ADN (SAM)	14
Figura 2. Mecanismo de acción del Receptor Estrogénico	24
Figura 3. Árbol filogenético (Neighbor-Joining) que muestra los valores del bootstrap considerando las distancias genéticas de todos los grupos de producción estudiados para el gen ESR	57
Figura 4. Árbol filogenético (Neighbor-Joining) que muestra los valores del bootstrap considerando las distancias genéticas de todos los grupos de producción estudiados para el gen PRLR	59
Figura 5. Árbol filogenético (Neighbor-Joining) que muestra los valores del bootstrap considerando las distancias genéticas de todos los grupos de producción estudiados para el gen FUT1	61
Figura 6. Árbol filogenético (Neighbor-Joining) que muestra los valores del bootstrap considerando las distancias genéticas de todos los grupos de producción estudiados para el gen RBP4	62
Fotografía 1. RFLP del gen ESR	41
Fotografía 2. RFLP del gen PRLR	42
Fotografía 3. RFLP del gen FUT1	42
Fotografía 4. RFLP del gen RBP4	42

RELACIÓN DE CUADROS

Cuadro 1. Frecuencias génicas y genotípicas del ESR	49
Cuadro 2. Frecuencias génicas y genotípicas del PRLR	51
Cuadro 3. Frecuencias génicas y genotípicas del FUT1	53
Cuadro 4. Frecuencias génicas y genotípicas del RBP4	55
Cuadro 6. Distancias estándar de Nei entre grupos de producción (GP) del gen PRLR	58
Cuadro 7. Distancias estándar de Nei entre grupos de producción (GP) del gen FUT1	60
Cuadro 8. Distancias estándar de Nei entre grupos de producción (GP) del gen RBP4	62
Cuadro 9. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de los genotipos encontrados en el gen ESR	64
Cuadro 10. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada nivel de producción y cada genotipo del gen ESR	66
Cuadro 11. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada grupo y cada genotipo del gen ESR	68
Cuadro 12. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de los genotipos encontrados en el gen PRLR	71
Cuadro 13. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada nivel de producción y cada genotipo del gen PRLR ...	72
Cuadro 14. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación	

estándar (DE) de cada grupo y cada genotipo del gen PRLR	75
Cuadro 15. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de los genotipos encontrados en el gen FUT1	79
Cuadro 16. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada nivel de producción y cada genotipo del gen FUT1	80
Cuadro 17. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada grupo y cada genotipo del gen FUT1	82
Cuadro 18. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de los genotipos encontrados en el gen RBP4	85
Cuadro 19. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada nivel de producción y cada genotipo del gen RBP4 ...	87
Cuadro 20. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada grupo y cada genotipo del gen RBP4	89

RESUMEN

Se estudiaron cuatro genes candidatos para tamaño de la camada. Los genes receptores de los estrógenos, receptor de la prolactina, retinol-binding protein 4 y alpha 1,2 fucosyltransferasa fueron evaluados para medir sus asociaciones con el número de lechones nacidos totales (LNT), lechones nacidos vivos (LNV), peso de la camada al nacimiento (PNAC) y al destete (PAJ21), lechones destetados (LD), y el valor de cría de la progenie de la cerda (VRDC). Se estudiaron 300 hembras porcinas York-Landrace de dos niveles de producción (NP): nivel alto (NA) y nivel bajo (NB) y estos niveles, a su vez, se dividieron en 3 grupos cada uno de acuerdo a la paridad de las marranas. Se utilizaron pruebas de Chi cuadrada para analizar las frecuencias génicas y genotípicas estableciendo el equilibrio de Hardy-Weinberg, se hicieron análisis de varianza donde la comparación de medias se hizo con contrastes ortogonales y se calcularon distancias genéticas para construir árboles filogenéticos. Las hembras con alta productividad se asociaron con una mayor frecuencia del alelo B del gen ESR ($p < 0.05$) y no se detectaron animales homocigotos BB. Las frecuencias génicas y genotípicas del gen PRLR no mostraron ($p > 0.05$) estar relacionadas con la paridad y los niveles de producción. En el gen RBP4 la frecuencia del alelo A y del genotipo AA fue más alta en hembras con NA ($p < 0.05$), sin embargo no se detectaron animales con genotipo BB. La frecuencia del alelo G y del genotipo GG del gen FUT1 fue mayor en el nivel de productividad alto ($p < 0.05$). La mayoría de los genes no se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg en los grupos estudiados ($p > 0.05$). Los árboles filogenéticos obtenidos mediante el análisis Neighbor-Joining presentaron una topología similar, se observó una clara separación

entre los grupos que pertenecen al nivel de alta producción y los grupos del nivel de baja producción con todos los genes excepto el gen PRLR. En los contrastes se encontraron diferencias de 0.4 LNV, 0.3 LD, 2.9 Kg de PAJ21 y 8.6 puntos de VRDC a favor del genotipo AB del gen ESR ($p < 0.05$) sin considerar el NP ni la paridad. En el gen PRLR no hubo diferencias ($p > 0.05$) entre los genotipos AA, AB y BB con y sin considerar el NP ni la paridad. En el gen RBP4 las hembras con genotipos AA tuvieron más 0.5 LNT, 0.5 LNV, 0.6 Kg de PNAC, 2.6 KG de PAJ21 y 3.2 puntos de VRDC que el genotipo AB ($p < 0.05$), sin considerar el NP ni la paridad. El genotipo GG fue superior al genotipo AG con más 0.6 LNV, 0.8 Kg de PNAC, 3 Kg de PAJ21 y 3.9 puntos de VRDC ($p < 0.05$) sin considerar el NP ni la paridad. En el presente trabajo se concluye que los genotipos asociados a los genes ESR, FUT1 y RBP4 se relacionan con características reproductivas de las cerdas, independientemente del nivel de producción y su paridad.

SUMMARY

Four candidate genes were studied for litter size. The estrogen receptor (ESR), prolactin receptor (PRLR), retinol-binding protein 4(RBP4) and alpha 1,2 fucosyltransferase (FUT1) genes were evaluated for measure their associations with the total number born (TNB), number of piglets born alive (NBA), number of piglets alive at weaning (NW), total weight of piglets born (WTNB), total weight of piglets alive at weaning (WNW) and breeding value sow productivity (BVSP). This study was made with three hundred York-Landrace sows of two levels of production (LP): high level (HL) and low level (LL) and these levels were divided in three groups each one according to the parity of the sows. Chi-Square tests were used to analyze the alleles and genotypic frequencies establishing the Hardy-Weinberg equilibrium, analysis of variance was made where the comparisons of means were made by orthogonal contrasts and genetics distance were calculated to build phylogenetic trees. The sows with high production were associated with a higher frequency of B allele of ESR gene ($p < 0.05$) and no homozygous BB animal was detected. The alleles and genotypic frequencies of PRLR gene did not show ($p > 0.05$) to be related with the parity and the production levels. In the RBP4 gene the frequency of A allele and the AA genotype was higher in sows with HL ($p < 0.05$), however, no homozygous BB animals were detected. The frequency of G allele and GG genotype of FUT1 gene was higher in the HL ($p < 0.05$). Most of the genes were not in Hardy-Weinberg equilibrium in the groups studied ($p > 0.05$). The phylogenetic trees obtained by Neighbor-Joining analysis showed a similar topology, a evident separating was seen among the groups that pertain to high level and the groups of low level with all genes except PRLR gene. In

the contrasts, differences of 0.04 NBA, 0.3 NW, 2.9 WNW kg and 8.6 BVSP points to favor of AB genotype of ESR gene were found ($p < 0.05$), without considering the LP neither the parity. In the PRLR gene did not have differences ($p > 0.05$) between the AA, AB and BB genotypes with and without considering the LP neither the parity. In the RBP4 gene the sows with AA genotype had 0.5 TNB, 0.5 NBA, 0.6 WTNB kg, 2.6 WNW kg and 3.2 BVSP points more than sows with AB genotype ($p < 0.05$), without considering the LP neither the parity. The GG genotype was higher than AG genotype with 0.6 TNB, 0.8 WTNB kg, 3.0 WNW kg and 3.9 BVSP points more ($p < 0.05$). In the present work was concluded that genotypes associated to the ESR, FUT1 and RBP4 genes were related with reproductive traits of the sows, independent of their level production and their parity.

I. INTRODUCCIÓN

La producción eficiente es esencial para que los productores de cerdos sean competitivos, buscando siempre una mayor productividad de sus explotaciones, la cual debe basarse en un adecuado manejo, nutrición y sanidad de la piara, una buena calidad del pie de cría y una eficiente reproducción (Rosas y Ávila, 1999; Trujillo *et al.*, 2002). Otro aspecto trascendental, es la sustentabilidad económica de la explotación (Martínez *et al.*, 2003).

Los cerdos poseen características económicamente importantes que contribuyen a la eficiencia productiva de las empresas porcinas, sin embargo, no todos los cerdos tienen el mismo potencial genético, por lo cual es muy importante identificar las diferencias entre animales, que permitan escoger como reproductores aquellos con mayores probabilidades de transmitir características superiores a su descendencia.

El potencial genético de un animal, esta en función de muchos pares de genes y para mejorarlo se debe incrementar la frecuencia aquellos relacionados con características deseables para el productor. El mejoramiento genético considera introducir nuevos genes y aumentar la frecuencia de los genes favorables y de sus combinaciones dentro de una raza, línea o familia. (Rosas y Ávila, 1999). Sus elementos básicos son la selección y el sistema de reproducción. La selección es un proceso direccional mediante el cual a una parte de la población se le permite reproducirse, generalmente a los animales que superan al promedio del grupo al cual pertenecen, teniendo la oportunidad de ser padres de las siguientes generaciones. Si

los individuos seleccionados son genéticamente superiores al promedio de la población, entonces, se espera que sus hijos superen a sus contemporáneos en la característica de interés (Falconer , 1981; Rosas y Ávila, 1999; Herrera *et al.*, 2003; Trujillo *et al.*, 2002).

Los métodos de selección de características cuantitativas, se basan en la evaluación de animales a través de sus propios registros y de sus parientes cercanos, para ello se generan bases de datos con mediciones de características de interés y mediante un riguroso análisis y procedimientos de evaluación genética se selecciona al pie de cría (Rosas y Ávila, 1999; Sánchez, 2003).

En la actualidad, con los avances tecnológicos de la biología molecular e ingeniería genética, han surgido otros métodos más precisos para realizar la selección genética de los animales más productivos. La capacidad de generar mapas genéticos de las diferentes especies permite que su genoma completo sea evaluado (Sánchez, 2003); de esta manera se identifican marcadores moleculares, los cuales son regiones de ADN capaces de identificar en los cromosomas los genes que codifican para características cuantitativas.

Existen técnicas moleculares apoyadas en PCR, como: Fragmentos de restricción polimorfa (RFLP), amplificadores polimorficos de ADN al azar (RAPD), polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP), polimorfismos de base simple (SNPs) y Microsatélites, con las cuales se pueden identificar genotipos y relacionarlos con su comportamiento productivo, de esta manera la respuesta a la selección usando marcadores moleculares es mayor e incrementa su confiabilidad.

Al identificar genotípicamente a los reproductores, se puede planear sistemáticamente los apareamientos, evitando cruzamientos indeseables y fomentando los deseables.

Algunos investigadores han encontrado relaciones entre las variantes de genes y el comportamiento fenotípico de los animales, por lo cual proponen que el uso de la selección asistida por medio de marcadores moleculares puede ser más eficaz, en conjunto con el uso de selección tradicional (Vincent *et al.*, 1997; Montaldo y Meza, 1998; Korwin *et al.*, 1998; Drogemuller *et al.*, 2001; Rothshild *et al.*, 2003b).

En el caso de los cerdos se ha demostrado que los genes Receptor Estrogénico (ESR), Receptor de la prolactina (PRLR), Retinol-binding Protein 4 (RBP4) y Alpha 1,2 fucosyltransferasa (FUT1) tienen alelos que participan en rasgos económicamente importantes.

HIPÓTESIS

En el cerdo, existen variantes de genes que se pueden identificar a través de técnicas moleculares y se relacionan con la capacidad reproductiva de las hembras porcinas.

1.2. OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la participación de genes candidatos en el comportamiento reproductivo de hembras porcinas.

1.2.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- En hembras porcinas de diferentes paridades y niveles de producción identificar los genotipos, por medio de PCR-RFLP, y las frecuencias alélicas presentes para los genes ESR, PRLR, FUT1 Y RBP4 importantes en rasgos de importancia económica.
- Determinar si hay una asociación entre las variantes genotípicas de estos genes candidatos y el desempeño reproductivo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Potencial productivo de la cerda de pie de cría

En la producción porcina, es de trascendental importancia conocer la eficiencia reproductiva que se evalúa analizando los índices de producción asociados a la alta eficiencia productiva buscando el mayor número de lechones destetados por cerda por año, para obtener la máxima eficiencia que garantice el retorno económico (Martínez *et al.*, 2003; Trujillo *et al.*, 2002; Sánchez, 2003).

En un esquema de producción comercial las principales características que se buscan mejorar son aquellas que tienen una importancia económica para el productor (Rosas y Ávila, 1999), las cuales pueden agruparse en características reproductivas y productivas, considerando dentro de la primeras a toda la información que se genera por el pie de cría (hembras y sementales), y de las segundas las generadas por la fase terminal (crianza y engorda) (Trujillo *et al.*, 2002; Trujillo *et al.*, 1998).

Para determinar la eficiencia o el potencial de producción de la perra reproductora es necesario considerar un mínimo de parámetros productivos. Los parámetros productivos que se implementan dentro de una granja porcina se pueden definir como el rango óptimo a manejar de cada variable de producción (Trujillo *et al.*, 1998), entre éstos se citan los siguientes:

- Los días de destete a estro (DDDE)
- El porcentaje de fertilidad (PF)
- Los lechones nacidos por camada (LN)
- Los lechones nacidos vivos (LNV)
- El porcentaje de mortalidad en maternidad (PMM)
- Los días de lactancia (DL)
- El promedio de lechones destetados (LD)
- Los días abiertos (DA)
- Los días del ciclo de la cerda (DC)
- Los partos por hembra por año (PHA)
- Los lechones destetados por cerda por año (LDCA)
- El porcentaje de desecho (PD)
- El porcentaje de reemplazo (PR) y
- La mortalidad de las hembras (MH)

Estos parámetros pueden ser modificados de una región a otra de manera importante, por lo cual se hace fundamental conocer cual es el potencial productivo en la zona de interés.

De acuerdo a los reportes nacionales de PigChamp (2000) los parámetros productivos alcanzados en México son los siguientes:

Variable	Promedio	Mediana	Superior	Superior
			25%	10%
DESEMPEÑO REPRODUCTIVO				
Servicios repetidos, %	12.2	12	11	6.9
Apareamientos múltiples, %	85.5	98.8	99.9	100
Intervalo destete-primer servicio, días	22.4	31.3	23.9	20.8
Cerdas servidas 7 días postdestete, %	85.7	85.4	88.5	90.7
Intervalo destete-1er servicio	7.2	7	6.5	6.5
Días promedio no productivos	106	117	72	44
DESEMPEÑO DE PARICION				
Duración promedio de gestación	114.2	114	114	113
Intervalo entre partos	148	148	152	154
Tasa de parición, %	63.5	57	78.9	82.2
Promedio de cerdos totales/camada	9.7	9.8	10	10.5
Promedio de cerdos nacidos vivos/camada	8.9	8.9	9.2	9.5
Promedio de cerdos nacidos muertos	0.6	0.5	0.4	0.4
Promedio de momias por camada	0.2	0.3	0.1	0
Porcentaje < 7 nacidos vivos	18.3	19.1	14.6	13.2
Camadas/hembra/año	1.93	1.75	2.23	2.36
Camadas/hembra servida/año	2.09	2.05	2.38	2.47

DESEMPEÑO DE DESTETE

Cerdos destetados/camada destetada	8.5	8.6	8.9	9.4
Edad promedio al destete	21.3	21.5	18.3	16.8
Peso ajustado a los 21 días (kg)	55	58	59	60
Cerdos destetados/cerda	8.2	8.3	8.5	8.7
Cerdos destetados/maternidad/hembra/año	17.2	16.2	20.2	21.2
Cerdos destetados/hembra/año	16	14.5	20	20.1

Los parámetros anteriores pocas veces corresponden a la realidad de una granja de producción intensiva y solo algunos animales los alcanzan ocasionalmente durante su vida productiva (Trujillo *et al.*, 2002). Sin embargo, estos parámetros se pueden mejorar a través de la selección de los individuos genéticamente superiores a la población promedio donde se espera que sus hijos se comporten por arriba del promedio de la piara.

2.2. Métodos de selección para el mejoramiento genético

El mejoramiento genético animal consiste en la aplicación de los principios de la genética de poblaciones para el diseño y conducción de programas que buscan la obtención de animales con mejores características productivas que la población de la cual provienen (Herrera *et al.*, 2003). Los programas de mejoramiento genético se elaboran para utilizar la variabilidad genética aditiva de las poblaciones animales y sus elementos básicos son la selección (determinar cuáles individuos van a dejar

descendencia) y los sistemas de apareamiento (determinar cómo los individuos seleccionados serán apareados) (Herrera *et al.*, 2003; Rosas y Ávila, 1999).

Existen muchas características de importancia económica en la producción porcina, por lo que la decisión de la selección más importante que se debe hacer es elegir cuales características se deben seleccionar en los hatos (Rosas y Ávila, 1999; Falconer, 1981).

La selección es un proceso direccional por medio del cual únicamente a una parte de la población se le permite reproducirse e involucra el proceso de elegir a los mejores animales dentro de una población para que estos sean los reproductores y padres de las futuras generaciones (Herrera *et al.*, 2003; Trujillo *et al.*, 2002; Rosas y Ávila, 1999; Falconer, 1981). La base para la selección es la similitud genética entre los padres y sus hijos. Cada padre transmite una mitad aleatoria de sus genes a sus hijos, por lo tanto el mérito genético de la progenie depende de la composición genética de sus padres (Rosas y Ávila, 1999; Falconer, 1981). La selección es la principal fuerza que provoca cambios en la frecuencia de los genes. Es importante resaltar que la selección no crea nuevos genes, simplemente hace que los poseedores de algunos genes o de algunas combinaciones de ellos tengan más descendencia que otros que carecen de tales genes o sus combinaciones.

El objetivo de la selección es el mejoramiento genético (Rosas y Ávila, 1999) sin embargo, la composición genética de un animal no puede ser medida directamente, lo que se mide es el fenotipo, que es el resultado de la interacción de la composición

genética del animal con el medio en que se desarrolla, de modo que una característica fenotípica particular puede ser el resultado de varias combinaciones genotípicas diferentes (Falconer, 1981). Existe variación entre los genotipos de animales, debido a que tienen diferentes progenitores, también los ambientes varían entre los animales, por lo tanto, se encontrará variación en el fenotipo de las características medidas. Minimizando la variación ambiental se puede mejorar la precisión de selección, para que las diferencias entre los animales sean solo de naturaleza genética (Rosas y Ávila, 1999).

Existen dos tipos de selección: natural y artificial. La selección natural se refiere a la influencia del medio ambiente sobre la probabilidad de que un fenotipo determinado sobreviva y se reproduzca. Por medio de ella, aumenta el número de organismos con variaciones positivas y disminuyen o desaparecen aquellos que posean mutaciones perjudiciales. La selección artificial es un instrumento utilizado por el hombre para alterar la apariencia y productividad de los animales domésticos, y es un conjunto de reglas que determinan cuáles individuos sobreviven y serán los padres de la siguiente generación (Rosas y Ávila, 1999).

2.2.1. El método de selección tradicional

Este método se basa en la selección de animales genéticamente superiores que tienen las características de interés económico para el productor y que se cruzan con otros animales superiores buscando obtener productos con características deseables

y son evaluados a través de bases de datos donde se encuentran las mediciones de las características de interés (fenotipo) y un riguroso control genealógico, que implica el registro de los padres de cada animal de la población.

El comportamiento observado o medido en cada animal para cada característica y las diferencias en productividad entre los individuos o grupos de animales, son resultado de los genes recibidos de sus padres y el medio ambiente en el cual se desarrollan. Debido a que las diferencias entre los animales para características económicamente importantes son debidas a la variación genética, las medidas sistemáticas y el uso de registros en la selección pueden incrementar la tasa de mejoramiento genético, además, los individuos genéticamente superiores pueden ser identificados con facilidad cuando los animales se mantienen bajo los mismos sistemas de manejo y sus registros de productividad son ajustados a efectos ambientales conocidos, lo cual proporciona una herramienta básica en la selección tradicional (Rosas y Ávila, 1999).

Se han desarrollado nuevas metodologías para el mejoramiento de los cerdos, muchas de las variables de importancia económica para las granjas porcinas son mejoradas hoy en día por medio de la selección fenotípica de caracteres cuantitativos, como el BLUP. El BLUP es un método estadístico para calcular valores genéticos estimados (EBV) o diferencias esperadas en la progenie (EPD) que toma en cuenta todas las fuentes conocidas de información de las características que están siendo evaluadas (Rosas y Ávila, 1999; Henderson, 1984). Esta metodología junto con el uso de la inseminación artificial o transferencia de embriones permite la

distribución de material genético de animales altamente productores (Trujillo *et al.*, 2002).

Los avances importantes de algunas de las características económicamente importantes se han alcanzado basándose en el funcionamiento fenotípico, sin embargo, varias limitaciones de estos métodos de mejora basados en genética de la población solamente son evidentes con el tiempo y su eficacia disminuye cuando las características son difíciles de medir. Además, la selección se ha limitado a esas características que se pueden medir correctamente en una gran cantidad de animales (Schwerin *et al.*, 1995).

2.2.2. Selección asistida por marcadores de ADN.

Un marcador genético es un segmento de ADN con una ubicación física identificable en un cromosoma y cuya herencia se puede rastrear. Un marcador puede ser un gen o puede ser alguna sección del ADN sin función conocida. Dado que los segmentos del ADN que se encuentran contiguos en un cromosoma tienden a heredarse juntos, los marcadores se utilizan a menudo como formas indirectas de rastrear el patrón hereditario de un gen que todavía no ha sido identificado, pero cuya ubicación aproximada se conoce. Un marcador molecular monomórfico es invariable en todos los organismos estudiados, pero cuando presenta diferencias en el peso molecular, actividad enzimática, estructura, o sitios de restricción, se dice que es polimórfico. Los marcadores se usan para el mapeo genético como el primer paso para encontrar

la posición e identidad de un gen (Rosas y Ávila, 1999; Silió *et al.*, 2000; Valadez y Günter, 2000; Jiménez y Collada, 2000; Sánchez, 2003).

Los avances de la biología molecular durante la década de los 80s, han aportado una clase de marcadores genéticos que permiten visualizar diferencias tangibles entre las secuencias homologas del ADN de los organismos. Estas diferencias resultan de cambios entre los pares de bases que conforman esta molécula. Este tipo de marcadores detecta variaciones directas a nivel de ADN y tienen ventajas tales como el hecho de ser dominantes o codominantes, de desarrollarse de manera estable, de carácter de efectos pleiotrópicos y de no estar sujetos al ambiente en donde se desarrolla el organismo en estudio (Jeffreys *et al.*, 1986; Hagelberg *et al.*, 1991; Valadez y Günter, 2000). La mayor parte de estos marcadores se han desarrollado a partir de la estrategia de genes candidatos (en la que se conoce previamente la función del gen y en consecuencia resulta previsible su influencia en el carácter estudiado) (Silió *et al.*, 2000).

Varios estudios han demostrado relaciones entre las variantes de genes y el comportamiento fenotípico en varias características en varias especies animales (Breever *et al.*, 1990; Anderson *et al.*, 1994; Georges *et al.*, 1995; Haley, 1995; Ashwell *et al.*, 1997). Estos estudios han alentado la idea de agregar la información genotípica a la información fenotípica para aumentar o acelerar la respuesta a la selección de los métodos tradicionales, lo cual se conoce como selección asistida por medio de marcadores moleculares (Ramos *et al.*, 2003; Rothschild y Plastow, 1999; Rothschild, 2003a).

Montaldo H. y Barría N. (1998) ilustran la respuesta a la selección cuando se asiste con marcadores moleculares, en la siguiente figura:

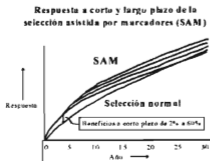


Figura 1. Respuesta a corto y largo plazo de la selección asistida por marcadores de ADN (SAM), las líneas rojas muestran el avance posible usando SAM comparada a selección convencional en una característica cuantitativa. El efecto de la SAM será incrementar la respuesta a corto plazo (Reproducido con autorización de: Kinghorn, B.P. (1998). Managing genetic change under operational and cost constraints. 36th National Congress of the South African Association of Animal Science. University of Stellenbosch 5-8 April. pp 9-16).

Cuando varios marcadores moleculares se asocian inequívocamente con un rasgo genético, se dice que forman un QTL (loci de rasgos cuantitativos). Varios QTLs

examinan y analizan genes candidatos que han identificado regiones importantes en el cromosoma y genes individuales asociados con rasgos de características económicas importantes. Así, QTLs para crecimiento y grasa, calidad de carne y caracteres reproductivos han sido identificados en diversas regiones del genoma porcino (Rothschild, 2003b). Algunos de los genes candidatos que se han identificado para crecimiento y grasa dorsal son el receptor 4 del melanocortin (Ciobanu *et al.*, 2001), Leptina y receptor de la leptina (Vincent *et al.*, 1997). También se dispone de información sobre genes candidatos y sus mutaciones, que pueden influir sobre determinados caracteres cuantitativos: genes del receptor de estrógenos (ESR) (Rothschild *et al.*, 1996; Short *et al.*, 1997; Linville *et al.*, 2001, prolactina (PRL) y receptor de la prolactina (PRLR) (Korwin *et al.*, 1998; Vincent *et al.*, 1998; Drogemuller *et al.*, 2001; Birgitte *et al.*, 2003) o de la proteína de unión al retinol (RBP4) (Linville *et al.*, 2001; Rothschild, 2003b) para parámetros reproductivos o genes relacionados con los niveles de grasa intramuscular (FABP) (Rothschild, 2003b). En el ámbito de la resistencia genética a enfermedades se han obtenido recientemente resultados esperanzadores como la caracterización del gen de la fucosiltransferasa (FUT1) asociado al receptor de algunas cepas de *Escherichia coli* (Vögel *et al.*, 1996; Meijerink *et al.*, 1997) o el gen NRAMP relacionado con la resistencia a la infección por *Salmonella* (Tuggle *et al.*, 1997; Sun *et al.*, 1998).

Para obtener marcadores moleculares se utilizan diferentes métodos. La elección de los mismos debe hacerse pensando en la información que se quiere obtener. Las técnicas que permiten la detección de la variabilidad genética directamente al nivel del ADN son los polimorfismos de longitud de los fragmentos amplificados (AFLP),

los amplificadores polimórficos de ADN al azar (RAPD), los microsatélites y los polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) (Sambrook *et al.*, 1994; Valadez y Günter, 2000; Rothschild, 2003a). Todas estas técnicas moleculares implican la tecnología de la Reacción en Cadena de la Polimerasa.

2.2.2.1. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Esta técnica fue patentada en 1985 y se ha venido utilizando con bastante éxito en diferentes campos del conocimiento, ha invadido de tal forma la Biología Molecular, que hoy en día es muy difícil imaginar esta ciencia sin ella. En 1993, Kary Mullis recibió por este descubrimiento el Premio Nóbel de Química (Bloom, 2004).

La reacción en cadena de la polimerasa ofrece una alternativa a la clonación basada en vectores como medio de generar numerosas copias de ADN a partir de una muestra simple. Esta técnica imita la forma en la que el ADN se replica de forma natural en el interior de la célula. Esta tecnología se utiliza para sintetizar in-Vitro fragmentos específicos de ADN con la finalidad de detectar una secuencia o gen de interés en el genoma de un individuo (Arredondo, 1993; Valadez y Günter, 2000; Soberon, 2000).

La PCR tiene varios requerimientos, entre los cuales es indispensable un molde de ADN, moléculas iniciadoras llamadas primers, una enzima ADN polimerasa resistente a fluctuaciones de temperatura, una mezcla de desoxirribonucleótidos trifosfatos (dATP, dCTP, dGTP y dTTP), un amortiguador apropiado y un equipo

llamado termociclador que tiene la capacidad de cambiar las temperaturas dependiendo del ciclaje programado.

La PCR consiste de tres pasos esenciales: el primero es la desnaturalización y sirve para separar mediante temperatura (94°C) la molécula doble de ADN a cadenas sencillas, que servirán como moldes para la síntesis del fragmento respectivo. En el segundo paso, la temperatura se reduce para permitir el alineamiento (o reconocimiento) de las moléculas iniciadoras a la secuencia blanco del ADN molde. Las moléculas iniciadoras pueden variar en longitud, composición de bases nitrogenadas y especificidad para parearse con la secuencia blanco y dependiendo de esto, la temperatura de alineamiento puede variar desde 25°C a 65°C . En el tercero se lleva a cabo el alargamiento o extensión de la molécula iniciadora mediante la enzima ADN polimerasa a 72°C . La mas recomendable es la ADN polimerasa seleccionada para que tolere la temperatura de desnaturalización y se mantenga activa durante el número de ciclos que se requieran. En muchas investigaciones se utiliza la ADN polimerasa Taq, proveniente de la bacteria termófila *Thermus aquaticus*, debido a que tolera la temperatura de desnaturalización sin alterar la función de polimerización. Estos tres ciclos se repiten en el termociclador, permitiendo obtener de manera exponencial el fragmento sintetizado a partir del molde de ADN (Innis, 1990; Arredondo, 1993; Sambrook *et al.*, 1994; Valadez y Günter, 2000; Soberon, 2000; Bloom, 2004).

2.2.2.2. Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)

Los marcadores de ADN son secuencias genómicas localizadas en un mismo locus pero que difieren en su secuencia de bases nitrogenadas. Esas variaciones son consecuencia de varios eventos de mutaciones que se manifiestan en los genomas que se comparan. Para detectar alguna de estas mutaciones se utiliza la técnica de RFLP (Valadez y Günter, 2000). Esta tecnología utiliza enzimas de restricción (endonucleasas) para fragmentar la molécula de ADN, detectando el polimorfismo a través del número y tamaño de los fragmentos (Drinkwater and Hetzel, 1991; Sambrook *et al.*, 1994; Valadez y Günter, 2000; Jiménez y Collada, 2000; Sánchez, 2003; Rothschild, 2003a).

Cada una de las endonucleasas (actualmente se conocen más de 1500) reconocen y cortan solamente una secuencia específica de bases nitrogenadas en el ADN, siempre y cuando estas no estén protegidas (metiladas). El propio cromosoma bacteriano está protegido con dicho proceso de metilación en los sitios que reconocen las endonucleasas que la misma bacteria produce, por lo que no es afectado. Cualquier otro ADN que no estuviera metilado, podría ser reconocido y cortado en fragmentos de longitud definida y cualquier mutación dentro de esos sitios, podría cambiar el patrón del fragmento y permitir que se detecte un RFLP al comparar dos o más genomas.

Para la detección de RFLPs, en primer lugar es necesario aislar el ADN del organismo de interés, purificarlo y cortarlo con una o más endonucleasas de restricción. Los fragmentos resultantes se separan en un gel de agarosa por

electroforesis. El fragmento específico de ADN se hará visible con autorradiografía, luminografía o quimioluminiscencia (Valadez y Günter, 2000; Sambrook *et al.*, 1994).

2.2.2.3. Polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP)

La técnica de AFLP es un poderoso método para generar huellas digitales, específicas y reproducibles de ADN tomadas de cualquier muestra de ADN. Estas huellas digitales pueden diferenciar individuos cuando el polimorfismo de ADN está presente en los fragmentos que generó. La técnica está basada en la amplificación por PCR de un subconjunto de fragmentos obtenidos de digestión de ADN genómico con enzimas de restricción (Vos *et al.*, 1995; Plastow *et al.*, 2003; Sánchez, 2003). Primeramente el ADN es digerido con enzimas de restricción que generan extremos cohesivos y un adaptador de doble cadena es ligado al fragmento de ADN generando un templado para la amplificación. La secuencia de los adaptadores y el sitio de restricción adyacente, sirven como sitio blanco para el primer y la subsiguiente amplificación (Vos *et al.*, 1995; Sánchez, 2003).

Los AFLPs han sido utilizados con éxito para generar un gran número de marcadores de ADN. Esta información es utilizada para realizar un análisis inicial de distancias genéticas que permiten agrupar líneas y razas según sugiera la información descriptiva (Vos *et al.*, 1995; Plastow *et al.*, 2003).

2.2.2.4. Amplificados polimorficos de ADN al azar (RAPD)

La técnica de RAPD ha sido la metodología mas ampliamente utilizada en la PCR para diferentes propósitos, utiliza pequeños iniciadores de oligonucleótidos de secuencias aleatorias que usualmente tienen un contenido de guanina-citosina mayor a 50%. Estos iniciadores no tienen secuencias repetidas inversas internas (autocomplementarias) y se pegan a distintos sitios en un genoma, si es que existen diferentes sitios blanco para ellos. Esta unión es reconocida por la enzima ADN polimerasa que inicia el alargamiento del iniciador a partir del extremo 3'; el alargamiento resultante produce una cadena de ADN, cuya secuencia de bases es complementaria a la cadena molde. Una amplificación es exitosa, solo si el sitio blanco para el iniciador esta localizado en ambas cadenas del ADN molde en polaridad opuesta.

Usualmente esta técnica provee marcadores dominantes, ya que los polimorfismos se detectan mediante la presencia o ausencia de bandas que resultan de inserciones o deleciones en las regiones amplificadas, o a partir de cambios de bases en el ADN que alteran la unión del iniciador.

Actualmente, los marcadores tipo RAPDs proporcionan un método rápido para generar mapas genéticos y analizar poblaciones. Además este tipo de metodología puede dirigirse a la búsqueda de regiones monomorfas por marcadores previamente caracterizados y a la captura de regiones o de genes específicos con fines de clonación (Boscherini *et al.*, 1994; Valadez y Günter, 2000).

2.2.2.5. Microsatélites

Los microsatélites, conocidos también como secuencias simples, consisten en secuencias de ADN repetidas y dispuestas en forma seriada (*tandem*) a lo largo del genoma. Se han identificado de 2 a 10 pares de bases como unidad básica, y se han encontrado en la mayoría de los genomas eucariontes estudiados, lo que da lugar a la obtención de patrones de bandeo individuales o específicos para cada organismo cuando se analiza su genoma (Drinkwater and Hetzel, 1991; Groenen *et al.*, 2003). Algunos ejemplos de microsatélites que se han utilizado para la obtención de huellas genómicas son (GATA)₄, (GACA)₅, (TCC)₅, (GTG)₅, (GGAT)₄ (Valadez y Günter, 2000).

Los microsatélites presentan ventajas para estudios de rutina en individuos, tales como: la secuencia simple de ADN repetida esta dispersa en todos los genomas estudiados provenientes de células eucarióticas, todas las especies probadas para secuencias simples repetidas con oligonucleótidos, muestran información genética polimorfica y, para el análisis de las huellas genómicas, existen oligonucleótidos marcados radioactivamente (Valadez y Günter, 2000; Groenen *et al.*, 2003).

Una vez amplificado el ADN, los fragmentos resultantes son separados en función de su tamaño por medio de un proceso denominado electroforesis (Sambrook *et al.*, 1994; Rothschild, 2003a), que consiste en separar fragmentos de ADN en función de su tamaño al aplicar una corriente eléctrica a un gel en el interior del cual se ha introducido una mezcla de fragmentos (Anderson *et al.*, 1993). Éstos comienzan a moverse desde el polo negativo al polo positivo de tal modo que los fragmentos más

pequeños se mueven más rápido que los más grandes. Cuando la corriente cesa, los fragmentos de ADN se han distribuido a lo largo del gel, situándose los más pequeños más cerca del polo positivo, adoptando una apariencia similar a un código de barras. Cada barra contiene un fragmento de ADN de un tamaño determinado. Adicionalmente puede utilizarse una secuencia complementaria de un ADN como sonda para buscar un fragmento específico en el patrón de bandas.

2.3. Genes candidatos relacionados con características reproductivas en cerdos.

En rasgos que se expresan tarde en la vida de los cerdos, con heredabilidades bajas, como tamaño de la camada, se pueden utilizar marcadores genéticos que identifiquen a machos y hembras que tengan los alelos benéficos para la característica de interés y que se pueda detectar a edad temprana (Drogemuller *et al.*, 2001).

Genes candidatos analizados para reproducción han mostrado un mérito considerable. Resultados han demostrado claramente que el ESR, PRL y PRLR son asociados significativamente con tamaño de la camada en algunas razas comerciales (Rothschild *et al.*, 1996; Short *et al.*, 1997; Linville *et al.*, 2001; Rothschild *et al.*, 2003b).

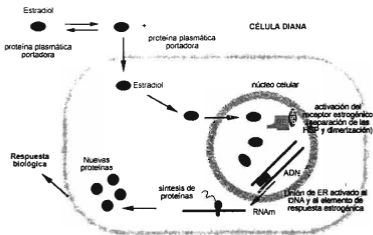
Receptor Estrogénico (ESR)

Los estrógenos son hormonas esteroideas que junto con la progesterona hacen posible la fertilidad de las hembras al liberar el óvulo y regular el ciclo sexual. Además, los estrógenos determinan el fenotipo de las hembras, haciendo que los órganos sexuales alcancen su desarrollo completo, en el tracto genital, los estrógenos tienen el siguiente efecto: el ovario resulta inhibido en su función por dosis elevadas de estrógenos, por el contrario, cantidades pequeñas de estrógenos actúan estimulando. Bajo la influencia de los estrógenos, el oviducto aumenta en longitud y diámetro, éstos actúan en el útero en la fase de la pubertad, así como lo relativo a los fenómenos de desarrollo del ciclo uterino, revisten particular importancia en la preparación del endometrio para el anidamiento del óvulo fecundado, la vagina experimenta una serie de alteraciones de la mucosa, las cuales sirven principalmente para la producción de un acondicionamiento adecuado para el apareamiento. En sinergismo con otras hormonas, los estrógenos ayudan el desarrollo de las glándulas mamarias e inducen el comportamiento típico del celo en las hembras (Smidt y Ellenforff, 1972; Hershman, 1981; Jubiz, 1996). Sin embargo, todas las funciones de los estrógenos están mediadas por sus receptores (ESR), que han sido importantes reguladores en los procesos reproductivos. Por esta razón, el gen del receptor de los estrógenos se ha estudiado como un gen candidato para tamaño de la camada en cerdos (Rothschild *et al.*, 1996; Short *et al.*, 1997; Linville *et al.*, 2001; Drogemuller *et al.*, 2001; Isler *et al.*, 2002; Noguera *et al.*, 2003).

Los estrógenos actúan a nivel intracelular en las células diana que contienen los receptores estrogénicos. Al llegar a dichas células, los estrógenos se separan de sus

proteínas portadoras y se internalizan en la célula hasta llegar al núcleo en donde se encuentran los receptores estrogénicos. Al unirse a estos, los receptores se activan, separándose de las llamadas HSP (Heat Shock Proteins), dimerizándose y uniéndose al elemento de respuesta estrógenica. Este complejo se une al ADN y en último término, todos estos eventos se traducen en la síntesis de nuevas proteínas por los ribosomas del retículo endoplasmico. Estas proteínas, son las responsables de los efectos estrogénicos en los órganos diana. En la figura 2 se puede observar el mecanismo de acción de los receptores estrogénicos (McDonnell, 2004).

Figura 2. Mecanismo de acción del Receptor Estrogénico



El gen del ESR se localiza en el cromosoma 1p2.4-p2.5. Es de herencia autosómica codominante (Rothschild *et al.*, 1991). Una mutación de una timina por una guanina en la posición 1665 en la raza Meishan y Large White ha sido asociada con características reproductivas, principalmente tamaño de la camada (Rothschil *et al.*, 1996; Short *et al.*, 1997).

Para su estudio, diversos investigadores han amplificado fragmentos de ESR con la metodología de PCR y cortado con la enzima de restricción PvuII, encontrando polimorfismo dialélico, con alelos denominados A y B (Rothschild *et al.*, 1996; Short *et al.*, 1997; Linville *et al.*, 2001; Drogemuller *et al.*, 2001; Isler *et al.*, 2002; Noguera *et al.*, 2003).

Diversas investigaciones han demostrado que el alelo favorable para aumentar el número de lechones nacidos vivos y totales (Rothschild *et al.*, 1996; Short *et al.*, 1997; Chen *et al.*, 2000; Goliasova and Wolf, 2004) y el peso de la camada al nacimiento (Isler *et al.*, 2002) es el alelo B. Horogh *et al.* (2005) también encontró que el genotipo BB fue superior al genotipo AB y AA para las el número de lechones nacidos totales, lechones nacidos vivos y lechones destetados, en cualquier paridad y aunque Noguera *et al.* (2003) reportó una baja frecuencia del alelo B en la raza Landrace, éste fue asociado significativamente con aumento del tamaño de la camada del tercer parto en adelante. En una población de cerdos chinos los animales homocigotos BB produjeron de mas 1.4 a 3.37 lechones nacidos totales y de mas 0.63 a 3.58 lechones nacidos vivos por camada que las cerdas con genotipo AA (Chen *et al.*, 2000).

Los alelos para ESR han sido vistos primeramente en las razas Meishan y Yorkshire (Rothschild *et al.*, 1996), sin embargo, en su estudio, Short *et al.*, (1997) no detectó el alelo B en la raza Duroc y Linville *et al.*, (2001) tampoco lo detectó en la línea sintética Landrace/Large White.

Por otro lado, Drogemuller *et al.* (2001) comenta que el polimorfismo para ESR desafortunadamente no fue observado en la raza Landrace y Duroc, todos los animales de esas razas fueron homocigotos AA y en la línea Duroc/Large White la frecuencia para el alelo A fue de 0.90 y del alelo B de 0.10 y no se detectaron animales homocigotos BB.

Otros reportes de la frecuencia del alelo B en diferentes razas del gen ESR son las siguientes: 0.17 en una línea sintética $\frac{3}{4}$ Duroc, 0.51 en tres líneas sintéticas con una base común de Large White (Short *et al.*, 1997), 0.48 en la raza Yorkshire, 0.40 en la raza Large White (Isler *et al.*, 2002) y 0.07 en la raza Landrace (Noguera *et al.*, 2003).

Receptor de la Prolactina (PRLR)

La prolactina (PRL) es una hormona proteica secretada por la glándula pituitaria anterior y su función principal es estimular y mantener la lactancia. Se le relaciona con la regulación del ciclo reproductivo, el mantenimiento de la gestación y el crecimiento fetal, mediante un efecto sobre el metabolismo materno actuando sobre diferentes órganos efectores para facilitar sus funciones por sinergia o inhibición de

otras hormonas. Se puede decir que desempeña funciones como "tramitadora de permiso", modificando la sensibilidad de ciertos órganos efectores para que puedan actuar sobre ellos otras hormonas (Smidt *et al.*, 1972; Hershman, 1981; Jubiz, 1996; Vincent *et al.*, 1998; Ciobanu *et al.*, 2001; Korwin *et al.*, 2003).

El mecanismo de acción de la prolactina se produce a través de la interacción con un receptor de membrana. Estudios de Biología Molecular sobre mutaciones del gen del Receptor de PRL (PRLR) demostraron que la sustitución de las cisteínas origina un Receptor defectuoso tanto estructural como funcionalmente. Mutaciones en esta zona disminuyen notablemente la afinidad de unión PRL-Receptor (Scaglia *et al.*, 2002).

En ratones, se ha reportado, que la falta de funcionalidad en este gen PRLR produce defectos reproductivos (Ciobanu *et al.*, 2001; Birgitte *et al.*, 2003; Korwin *et al.*, 2003). Por tal motivo, el gen PRLR se ha propuesto como gen candidato en la regulación de la reproducción en cerdos y podría ser una herramienta potencial para ser usada en conjunto con métodos de selección tradicional para acelerar el ritmo en el incremento del tamaño de la camada (Vincent *et al.*, 1998).

El gen de PRLR en cerdos ha sido mapeado en el cromosoma 16q1.4 y presenta un cambio de una Citosina por una Timina en el exon 1. Un fragmento del PRLR fue amplificado de un templado de ADN usando PCR, el producto de PCR fue digerido con la enzima AluI, el polimorfismo fue dialélico (alelo A y alelo B). El alelo A fue asociado significativamente con número de lechones nacidos totales, lechones nacidos vivos (Vincent *et al.*, 1998; Korwin *et al.*, 2003), mayor ovulación y aumento

del número de células del cuerpo lúteo (Birgitte *et al.*, 2003). Vincent *et al.* (1998) reporta que los animales con genotipo AA tienen +0.66 lechones por camada que el genotipo BB en las razas Large White, Meishan y Landrace, pero existe la desventaja de los efectos dominantes del alelo B, sin embargo, el mecanismo por el cual este gen afecta tamaño de la camada aun no es conocido (Birgitte *et al.*, 2003).

Retinol-binding Protein 4 (RBP4)

La vitamina A es una vitamina liposoluble (también conocida como retinol) que tiene múltiples y diversas actividades biológicas, las cuales se pueden enumerar en cuatro principales:

1. Ayuda a la reproducción normal de las células, en un proceso llamado diferenciación (las células que no se diferencian normalmente tienen más probabilidades de sufrir cambios precancerosos).
2. Es necesaria para la visión; la vitamina A mantiene a las células sanas en distintas estructuras del ojo y se necesita para la transducción de la luz en señales nerviosas en la retina.
3. Se necesita para el crecimiento y el desarrollo normales del embrión y el feto; influye en genes que determinan el desarrollo secuencial de los órganos durante el desarrollo embrionario.
4. Puede ser necesaria para la función reproductiva normal; influye sobre la función y el desarrollo de los espermatozoides, los ovarios y la placenta.

Las múltiples acciones biológicas del retinol son mediadas por dos clases de proteínas: receptor del retinol y retinol binding protein.

Una vez dentro del organismo, el retinol se almacena en el hígado. En el caso de que los tejidos necesiten del retinol, éste es transportado a través de la sangre unido a una proteína llamada Retinol Binding Protein (RBP). Se origina así la holo-RBP que se procesa en el aparato de Golgi y se secreta al plasma. Los tejidos son capaces de captarla por medio de receptores de superficie. Este receptor, a su vez, regula la manifestación de varios genes, la mayoría de ellos asociados con la diferenciación celular (Nalubola and Nestel, 1999).

Hay un aumento en la expresión del gen RBP4 en el lumen uterino entre los 10 y 15 días de gestación. Hay mayor producción de esta proteína de unión al retinol durante el establecimiento de la gestación, por lo cual se considera que juega un papel importante en la reproducción (Linville *et al.*, 2000).

El gen responsable de la síntesis del RBP4 se localiza en el cromosoma 14 y es estudiado como gen candidato para tamaño de la camada en cerdos porque está envuelto en el desarrollo embriológico transportando la vitamina A en el útero durante los periodos críticos de la gestación (Messer *et al.*, 2000).

Rothschild *et al.* (2000) amplificó un fragmento de 550 pb del gen RBP4 y lo sometió a restricción con la enzima MspI observando dos alelos denominados A y B. Los alelos observados fueron descritos como sigue: (A) 190, 154 y 136 pb y (B) 154, 136 y 125 pb. En sus resultados reportó efectos aditivos asociados al gen RBP4 de 0.23 lechones por camada en seis líneas comerciales y con anterioridad Messer *et al.*

(1996) había reportado efectos aditivos de 0.52 ± 30 lechones por camada en la raza Large-White, además los resultados de ambos trabajos mostraron que el alelo A es el favorable para aumentar el número de lechones nacidos totales y lechones nacidos vivos.

Las frecuencias génicas reportadas de una línea comercial (Landrace/Large White), del gen RBP4 fueron de 0.42 para el alelo A y 0.58 para el alelo B (Linville *et al.*, 2001).

Por otro lado, Drogemuller *et al.* (2001) reportó frecuencias de 0.62 en líneas sintéticas (Duroc/Large White), 0.67 en Landrace Aleman y 0.85 en Duroc del alelo A, sin embargo, a pesar de que la frecuencia del alelo favorable (A) fue mayor al 50% el gen RBP4 no tuvo efecto significativo sobre tamaño de la camada en la línea sintética (Duroc/Large White).

2.4. Genes candidatos relacionados con resistencia a enfermedades en cerdos.

La creciente presión de selección aplicada a los rasgos comercialmente importantes en la producción porcina, generalmente es acompañada de incremento en los problemas de enfermedad. El inicio de una enfermedad generalmente es el resultado de la interacción del genotipo del animal y el ambiente al cual se expone. El control genético de ciertas enfermedades puede ser la presencia o ausencia de receptores de herencia simple (Rothschild, 2003b). Por tal motivo los genes que codifican para

presencia o ausencia de receptores para algunos antígenos se han convertido en genes candidatos para resistencia o susceptibilidad de enfermedades.

Alpha 1,2 fucosyltransferasa (FUT1)

La diarrea en lechones es un importante problema en la producción de cerdos. El principal agente etiológico son las cepas de *E. coli* que poseen el antígeno K88. Estas cepas tienen la habilidad de adherirse a la mucosa intestinal, la cual tiene grandes facilidades de colonización en el intestino delgado y de esta manera causa la diarrea. La adhesión es promovida por filamentos. El K88 se adhiere a receptores específicos en el borde de las células epiteliales del intestino dependiendo de las variantes del antígeno K88 ab, ac o ad. Los receptores específicos en la célula blanco son compuestos de diferentes azúcares, tal como D-galactosa, que ayudan a la adhesión bacteriana (Vögueli *et al.*, 1996; Meijerink *et al.*, 1997; Binder *et al.*, 2000).

El gen FUT1 es estudiado como gen candidato para resistencia a infecciones causadas por *E. coli* en lechones de 4 a 12 semanas de edad, ya que está asociado a la síntesis de los receptores para el antígeno K88 (Vögueli *et al.*, 1996). Éste gen se localiza en el cromosoma 6q11 y mide 9,3 kb, aproximadamente y presenta una mutación en la base 307 y 857 en el exón 2, cambia una guanina por una adenina (Meijerink *et al.*, 2000).

La existencia de dos fenotipos porcinos, uno de los cuales careció del receptor intestinal para K88 ac fue descrito primeramente por Sellwood *et al.* (1975) él

encontró que la presencia del receptor que promueve la adherencia de K88ac, y por lo tanto susceptible a la diarrea por K88, fue de herencia dominante.

Para determinar el polimorfismo del genotipo de FUT1 fue usada la amplificación por PCR y digestión con RFLP con la enzima HhaI, el polimorfismo fue dialélico (alelo A y G). El alelo G es el que codifica para la síntesis de receptores, éste se ha relacionado con susceptibilidad a la infección y es de herencia dominante. Cuando el alelo A está presente no hay receptores para el antígeno K88 de la bacteria *E. coli*, por lo tanto los animales son resistentes a la infección causada por esta bacteria, este alelo es recesivo (Meijerink *et al.*, 1997; Ciobanu *et al.*, 2001; Yan *et al.*, 2003). Los resultados de Binder *et al.* (2000) mostraron una asociación del genotipo FUT1 con el fenotipo, del 100% de los animales estudiados, donde los animales homocigotos A fueron resistentes a la adhesión y los heterocigotos y homocigotos G fueron susceptibles a la adhesión, las razas estudiadas fueron la Landrace, Piétrain y Large White.

La frecuencia del polimorfismo de FUT1 es diferente entre razas. Se ha demostrado que la raza Mangalitsa es de las más resistentes a la enfermedad de edema y diarrea. Existen creencias, generalmente aceptadas, que las razas antiguas, podrían ser un recurso importante de genes que confieren resistencia para diferentes enfermedades (Ciobanu *et al.*, 2001).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

El trabajo experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de Genética Molecular de la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nayarit y en el Laboratorio de Genética Molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

3.2. Grupos de animales

La selección de las muestras se hizo empleando el índice de productividad de la cerda (IPC), el cual es un índice de selección recomendado por la Federación Nacional de Mejora del cerdo (NSFI, 1995) para la línea genética materna y da una medida de productividad de la hembra evaluando la prolificidad y habilidad lechera de la cerda. Se calcula de la siguiente manera:

$$IPC = 100 + 6.5 (LNV - \text{promedio LNV}) + 1.0 (P21 - \text{promedio P21})$$

Donde:

LNV = Lechones nacidos vivos

P21 = Peso de la camada a los 21 días (Trujillo *et al.*, 2002; Rosas y Ávila, 1999).

A partir del IPC se puede obtener el valor reproductivo de la progenie de la cerda (VRDC) que es el mejor estimador de la capacidad genética de la productividad de la cerda y se calcula como sigue:

$$N \times H^2$$

$$VRDC = 100 + \frac{N \times H^2}{1 + (N - 1) \times R} \times (IPC - 100)$$

Donde:

N = es el número de parto

H² = es la heredabilidad (.20)

R = es la repetibilidad (.25)

(Trujillo *et al.*, 2002; PigChamp, 2000). Con este índice se pueden seleccionar a las madres de las futuras reproductoras.

En base al VRDC, tomado de la base de datos de PigChamp de la granja Antonio, se seleccionaron 300 vientres de dos niveles de producción: uno de alta producción (con valores de VRDC de 105 en adelante) y uno de baja producción (con valores de VRDC de 95 hacia abajo) con 150 vientres cada nivel, éstos niveles se dividieron en 3 grupos cada uno de acuerdo al número de parto. Los grupos quedaron como sigue:

Nivel	VRDC	Paridad	Grupos	Vientres
Alta producción (NA)	Mayor de 105	1er. parto	1A	50
		2-4 parto	2A	50
		5 partos en adelante	3A	50
Baja producción (NB)	Menor de 95	1er. parto	1B	50
		2-4 parto	2B	50
		5 partos en adelante	3B	50

3.3. Obtención de las muestras

Se obtuvieron 300 muestras sanguíneas de una población de cerdas reproductoras, entre el primero y séptimo parto, de raza comercial (York-Landrace) de la granja Antonio ubicada en Navojoa, Sonora. Se colectaron, en promedio, 5 ml de sangre por animal del seno orbital en tubos vacutainer con 0.5mg/ml de anticoagulante EDTA, la sangre se transportó al laboratorio con refrigerantes y se almacenó a -20°C para su posterior procesamiento.

3.4. Purificación de ADN genómico

Las extracciones de DNA a partir de sangre se realizaron mediante el protocolo descrito (Sambrook *et al.*, 1994), con algunas modificaciones en el laboratorio de Genética Molecular de la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nayarit y en el de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, el cual se describe a continuación:

Extracción y purificación de DNA con la técnica salina

1. Poner 0.3 ml de sangre con anticoagulante EDTA en tubos Eppendorf de 1.5 o 2 ml.
2. Agua destilada fría de 1.5 a 2 ml y mezclar.
3. Centrifugar a 12000 RPM por 5 min a 4°C
4. Tirar sobrenadante con pipeta o decantar y quedarse con paquete sedimento.
5. Agregar de 1.5 a 2 ml de agua destilada.
6. Mezclar con vortex.
7. Centrifugar a 12000 RPM por 5 min.

8. Pipetear o decantar para dejar sedimento.
9. Agregar 1 ml de solución Lisis (10 mM Tris-HCl pH8, 400 mM NaCl, 20 mM EDTA, 0.5% SDS).
10. Mezclar con vortex (deshacer paquete con puntas si es necesario).
11. Agregar 50 µg/ml de Proteinasa K e incubar a 65° C por una hora. Deshacer paquete con vortex.
12. Agregar NaCl 2 M final. Agitar con vortex por 15 segundos y centrifugar a 12000 RPM por 10 min a 4°C.
13. Recuperar sobrenadante en tubo nuevo de 1.5 ml.
14. Precipitar con (Alcohol absoluto) Isopropanol 1 a 1 (o Etanol 100% frío 2 a 1) precipitar a -20° C por 15 min. Centrifugar a 14000 RPM por 10 min, recuperar pastilla (tirar sobrenadante).
15. Suspender en 200 µl de alcohol (Etanol) 70%. Mezclar con vortex y Centrifugar a 14000 RPM por 10 min, recuperar pastilla (tirar sobrenadante).
16. Secar por 2 horas a 42° C o en speed vacum concentrador al vacío.
17. Suspender en 100 a 250 µl de EDTA 1 M en agua bidestilada desionizada para guardar a -20° C. Antes de guardar suspender bien el ADN a 50°C, cuidado de no degradar por alta temperatura.

3.5. Electroforesis

Para verificar la integridad del ADN purificado se realizó una electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1%. Se cargó una mezcla de 3 µl de ADN, azul de bromofenol 1X y se ajustó con TAE 1X a un volumen final de 10 µl. Las condiciones de electroforesis fueron de 30 minutos a 90 voltios. Al término de la electroforesis los productos fueron visualizados en un transluminador de luz UV utilizando como marcador de peso molecular λ BstEII teñidos con bromuro de etidio a una concentración final de 5 µg/ml durante 5 minutos, considerándose como

purificaciones óptimas aquellas que presentaban una banda única, intensa y de alto peso molecular.

3.6. Cuantificación de ADN

El ADN purificado se cuantificó en un fluorómetro DQ200-115v (Hoefer Scientific Instruments) empleando el reactivo de Hoechst 33258 como marcador fluorescente. Las lecturas se hicieron 2 veces, se promediaron y el producto de ADN purificado se ajustó a una concentración de 50ng/μl.

3.7. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Siguiendo los protocolos de Short *et al.* (1997), Drogemuller *et al.* (2001), Meijerink *et al.*, (1997) y Rothschild *et al.*, (2000) se amplificaron fragmentos del gen receptor estrogénico (ESR), receptor de la prolactina (PRLR), alpha 1,2 fucosyltransferasa (FUT1) y Retinol-binding protein 4, respectivamente, con algunas modificaciones en el laboratorio de Genética Molecular de la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nayarit y en el Laboratorio de Genética Molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los primers usados para la amplificación de cada gen fueron los siguientes:

Gen	Primer
ESR	F 5' CCT GTT TTT ACA GTG ACT TTT ACA GAG 3'
	R 5' CAC TTC GAG GGT CAG TCC AAT TAG 3'
PRLR	F 5' CGT GGC TCC GTT TGA AGA ACC 3'
	R 5' CTG AAA GGA GTG CAT AAA GCC 3'
FUT1	F 5' CTG CCT GAA CGT CTA TCA AGA TC 3'
	R 5' CTT CAG CCA GGG CTC CTT TAA G 3'
RBP4	F 5' GAG CAA GAT GGA ATG GGT T 3'
	R 5' CTC GGT GTC TGT AAA GGT G 3'

Las concentraciones de los reactivos usadas en la PCR para amplificar los fragmentos del ESR, PRLR, FUT1 y RBP4 fueron:

Reactivo	Concentración final	1rx
ADN 50ng/ μ l	100ng	2 μ l
Taq polimerasa 5U/ μ l	1U	0.2 μ l
Primers 10 μ M	0.4 μ M	1 μ l
dNTPs 2mM	0.2mM	2.5 μ l
Buffer 10X	1X	2.5 μ l
MgCl ₂ 30mM	1.5mM	1.25 μ l
H ₂ O	c.b.p. 25 μ l	15.55 μ l

Las condiciones de la PCR para ESR, PRLR y FUT1 fueron: 1 ciclo de 95°C durante 8 minutos, 30 ciclos de 95°C 45 segundos, 58°C un minuto y 73°C un minuto y, 1 ciclo de 73°C durante 10 minutos.

Las condiciones de la PCR para el RBP4 fueron: 1 ciclo de 95°C durante 8 minutos, 35 ciclos de 95°C 45 segundos, 62°C un minuto y 73°C un minuto y, 1 ciclo de 73°C durante 10 minutos.

El tamaño de los fragmentos amplificados para el ESR fue de 120pb, para el PRLR de 163pb, para el FUT1 de 421pb y para el RBP4 de 550 pb. Los productos de PCR del ESR fueron visualizados en geles de agarosa al 4% y los de PRLR, FUT1 y RBP4 en geles de agarosa al 3%, preteñidos con bromuro de etidio (0.5 µg/ml) en un transluminador de rayos ultravioleta.

3. 8. Polimorfismo de la Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLP)

Las enzimas de restricción usadas para digerir el ESR, PRLR y FUT1 fueron la PvuII, AluI y HhaI, respectivamente, y las concentraciones de los reactivos para la digestión fueron las siguientes:

Reactivo	Concentración final	1 rx
Producto de PCR	---	5.0 µl
Enzima de restricción 10U/ µl	1U	0.1 µl
Buffer de enzima 10X	1X	1.0 µl
H ₂ O	c.b.p. 10 µl	3.9 µl

La enzima de restricción que se usó para digerir el gen RBP4 fue la MspI. El protocolo del RFLP fue el siguiente:

Reactivo	Concentración final	1 rx
Producto de PCR	-----	5.0 μ l
Enzima de restricción 10U/ μ l	2U	0.2 μ l
Buffer de enzima 10X	1X	2.0 μ l
H ₂ O	c.b.p. 10 μ l	2.8 μ l

Las digestiones de los genes ESR, PRLR y FUT1 fueron sometidos a una temperatura de 37°C durante 3 horas y la restricción del gen RBP4 se sometió a la misma temperatura pero durante 7 horas.

3.9. Diagnostico de genotipos

Los fragmentos generados de los RFLPs fueron visualizados en geles de agarosa, preteñidos con bromuro de etidio (0.5 μ g/ml), al 4% en el caso del ESR, PRLR y RBP4, y al 3% en el caso de FUT1, en un transluminador de rayos ultravioleta. El marcador de peso molecular usado como referencia para medir el tamaño de los fragmentos generados en el RFLP fue el pBR322/MspI.

El ESR tuvo un solo sitio de restricción generando dos fragmentos de 65 y 55 pb para el alelo B mientras que el alelo A no tuvo ningún sitio de restricción quedando un fragmento completo de 120 pb.

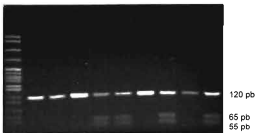
El tamaño de los fragmentos generados en el RFLP del PRLR fueron de 85 y 59 pb para el alelo A y de 104 y 59pb del alelo B.

El alelo A del FUT1 tuvo un solo sitio de restricción quedando dos fragmentos de 328 y 93 pb y el alelo G dos sitios de restricción generando 3 fragmentos de 241, 93 y 87 pb.

El gen RBP4 tuvo dos alelos, el A y el B, para el alelo A se generaron 3 fragmentos de 190, 154 y 136 pb y para el B 154, 136 y 125 pb.

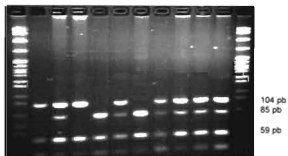
En las fotografías 1, 2, 3 y 4 se pueden observar los polimorfismo de los genes ESR, PRLR, FUT1 y RBP4, mediante el cual se hizo el diagnostico de los genotipos.

Fotografía 1. RFLP del gen ESR



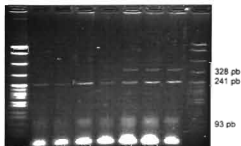
Gel de agarosa al 4%. El carril 1 tiene pBR322/MspI, en los carriles 2, 3, 4, 7 y 9 se observan genotipos AA y en los carriles 5, 6, 8 y 10 genotipos AB.

Fotografía 2. RFLP del gen PRLR



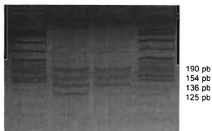
Gel de agarosa al 4 %. El carril 1 y 12 tienen pBR322/MspI, en los carriles 2 y 4 se observan genotipos BB, en los carriles 3, 6, 8, 9, 10 y 11 genotipos AB y en el carril 5 y 7 el genotipo AA

Fotografía 3. RFLP del gen FUT1



Gel de agarosa al 3 %. Los carriles 1 y 9 tienen pBR322/MspI, en los carriles 2, 3, 4 y 5 se observan genotipos GG y en los carriles 6, 7 y 8 genotipos AG

Fotografía 4. RFLP del gen RBP4



Gel de agarosa al 4 %. Los carriles 1 y 4 tienen pBR322/MspI, en el carril 2 se observan genotipos AB y en el carril 3 el genotipos AA.

3.10. Análisis estadístico.

Análisis de frecuencias y Equilibrio de Hardy-Weinberg

Se realizó un análisis de frecuencias génicas y genotípicas para cada gen, estableciendo el equilibrio de Hardy-Weinberg usando una prueba de χ^2 , considerando la metodología propuesta por Nei (1987).

Para cada gen, por separado, se realizó un Análisis de Varianza considerando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_i = \mu + (\text{GpoGenotipo})_i + e_i$$

Donde:

Y_i = Número de lechones nacidos totales (LNT); Número de lechones nacidos vivos (LNV); Peso de la camada al nacimiento (PNAC); Número de lechones destetados (LD); Peso de la camada al destete (PAJ21); Valor reproductivo de la cerda (VRDC)
(GpoGenotipo)_i = Los diferentes genotipos encontrados en cada grupo de producción
 e_i = Error aleatorio experimental

Distancias genéticas y árboles filogenéticos

Se calcularon distancias genéticas para construir árboles filogenéticos existentes entre los distintos grupos de producción, empleando los métodos de Distancia estándar y Neighbor-Joining (Nei et al., 1972; Nei et al., 1983; Saitou y Nei, 1987).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT



SISTEMA DE BIBLIOTECAS

Para estos cálculos se utilizó el paquete Phylip 3.5c (Felsenstein, 1995). Se realizaron 100 bootstrap o replicaciones aleatorias de conjuntos de datos partiendo del original, para proporcionar confiabilidad en la topología de los árboles, siguiendo las rutinas Seqboot (Felsenstein, 1995). Se realizó la rutina Gendist para el cálculo de Distancias estándar de Nei (1972):

$$D = -\log I_N, \text{ donde } I_N = \frac{\sum_k \sum_l x_{ik} y_{lk}}{\left(\sum_k \sum_l x_{ik}^2 \sum_k \sum_l y_{lk}^2 \right)^{1/2}}$$

x_{ik} y y_{lk} son las frecuencias del i -ésimo alelo del k -ésimo locus en las poblaciones X y Y. m_k es el número de alelos en el k -ésimo locus. Con el procedimiento Neighbor utilizando el método Neighbor-Joining se realizaron árboles filogenéticos, concensando el mejor árbol con la rutina Consense que aplica el método "Majority rule" al seleccionar el árbol con más frecuencia de acuerdo a los bootstrap (Felsenstein, 1995).

Contrastes ortogonales

Se hicieron tres grupos de Contrastes Ortogonales, los cuales son los siguientes:

1er. Grupo de contrastes ortogonales: Para cada genotipo se realizaron contrastes ortogonales comparando un genotipo contra otro de todos los genotipos encontrados, independientemente de la paridad y nivel de producción.

2º. Grupo de contrastes ortogonales: Para cada nivel de producción (NA y NB) se realizaron contrastes ortogonales comparando un genotipo contra otro de acuerdo a los genotipos encontrados.

3er. Grupo de contrastes ortogonales: Para cada grupo de paridad y su nivel de producción (1a, 1b, 2a, 2b, 3a y 3b) se realizaron contrastes ortogonales comparando un genotipo contra otro de acuerdo a los genotipos encontrados.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Frecuencias génicas y genotípicas

4.1.1. Gen ESR

Las frecuencias génicas y genotípicas del ESR de todos los animales incluidos en este estudio se muestran en cuadro 1. El ESR mostró independencia con los niveles de alta y baja producción y con los grupos de diferentes paridades ($p < 0.05$) con la prueba de χ^2 . Los grupos 1B, 2A, 2B y 3B se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p < 0.05$).

La frecuencia del alelo B fue más alta en los grupos de alta producción al igual que la frecuencia genotípica AB. En varias investigaciones se ha reportado que el alelo B es el deseable para aumentar el tamaño de la camada (Rothschild, 1996; Short *et al.*, 1997; Horogh *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2000; Goliasova and Wolf, 2004) por lo que es importante que en esta población el alelo B se presente con mayor frecuencia en los grupos de alta producción.

En ambos niveles de producción no se encontraron homocigotos para el alelo B, lo cual concuerda con lo reportado por Drogemuller *et al.* (2001) que no encontró homocigotos BB en la raza Duroc y Large White. Otros investigadores como Short *et al.* 1997, Drogemuller *et al.* 2001 y Noguera *et al.* 2003 encontraron frecuencias muy

bajas del alelo B (0.17, 0.10 y 0.07) en una línea con $\frac{3}{4}$ de Duroc, en una línea Duroc/Large White y en la raza Landrace, respectivamente.

Además Linville *et al.* (2001) y Drogemüller *et al.* (2001) no encontraron polimorfismo del gen ESR en la línea sintética Landrace/Large White y en la raza Landrace alemán, respectivamente, todos los animales de esas razas fueron homocigotos AA.

Rothschild *et al.* (1996), explica que el alelo B del ESR esta presente únicamente en grupos selectos de razas de cerdos, lo cual podría ser una explicación de la ausencia de los animales homocigotos BB en este estudio.

Cuadro 1. Frecuencias génicas y genotípicas del ESR

Grupo	Frecuencia génica		Frecuencia genotípica			Equilibrio de H-W
	A	B	AA	AB	BB	
NA	0.73	0.27	0.45	0.55	0	No
NB	0.82	0.18	0.65	0.35	0	No
1A	0.73	0.27	0.46	0.54	0	No
1B	0.83	0.17	0.66	0.34	0	Si
2A	0.80	0.20	0.60	0.40	0	Si
2B	0.82	0.18	0.64	0.36	0	Si
3A	0.65	0.35	0.30	0.70	0	No
3B	0.82	0.18	0.64	0.36	0	Si

ESR = Receptor Estrógeno; NA= Nivel de alta producción; NB= Nivel de baja producción; 1A, 2A y 3A = Marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de alta producción, respectivamente, y 1B, 2B y 3B marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de baja producción, respectivamente. H-W = Hardy-Weinberg.

4.1.2. Gen PRLR

Se encontraron dos alelos para el gen PRLR y están presentes en ambos niveles de producción y en todos los grupos de diferentes paridades, sin embargo, no hubo diferencias significativas ($p>0.05$) con la prueba de X^2 . La frecuencia del alelo A fue similar a la del alelo B en cualquiera de los grupos, al igual que las frecuencias genotípicas (Cuadro 2). También se puede observar que los grupos 1a, 3a y 3b están en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Frecuencias similares fueron reportadas por Drogemuller *et al.* (2001) que reportó frecuencias de 0.40 y 0.49 para el alelo A en la raza Landrace y en una línea de Duroc/Large White, respectivamente.

Se esperaban frecuencias altas del alelo A en el nivel de alta producción ya que Vincent *et al.* (1998) encontró que cerdas homocigotas AA tienen 0.66 lechones más por camada que las cerdas con genotipo BB, sin embargo, se encontraron frecuencias similares en ambos niveles de producción y que además no hubo dependencia de los grupos con las frecuencias alélicas ($p>0.05$) con la prueba de X^2 .

Cuadro 2. Frecuencias génicas y genotípicas del PRLR

Grupo	Frecuencia génica		Frecuencia genotípica			Equilibrio de H-W
	A	B	AA	AB	BB	
NA	0.37	0.63	0.09	0.56	0.35	No
NB	0.35	0.65	0.06	0.57	0.37	No
1A	0.20	0.71	0.06	0.46	0.48	Si
1B	0.31	0.69	0.02	0.58	0.40	No
2A	0.41	0.59	0.01	0.62	0.28	No
2B	0.32	0.68	0.04	0.56	0.40	No
3A	0.40	0.60	0.10	0.60	0.30	Si
3B	0.42	0.58	0.14	0.56	0.30	Si

PRLR = Receptor de la prolactina; NA= Nivel de alta producción; NB= Nivel de baja producción; 1A, 2A y 3A = Marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de alta producción, respectivamente, y 1B, 2B y 3B marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de baja producción, respectivamente. H-W = Hardy-Weinberg.

4.1.3. Gen FUT1

En el cuadro 3 se muestran las frecuencias gánicas y genotípicas de los animales incluidos en este estudio para el gen FUT1. con diferencias significativas ($p < 0.05$) el alelo G se encuentra con mayor frecuencia en los grupos de producción y solo el grupo 1A se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Nuestros resultados concuerdan con los de Horák *et al.* (2005) que encontró una mayor frecuencia del alelo A que del alelo G y además reportó que las cerdas con genotipo AA tuvieron menor número de lechones nacidos totales, lechones nacidos vivos y lechones destetados que las cerdas con genotipo GG.

Contrario a nuestros resultados y a los de Horák *et al.* (2005) otros investigadores como Meijerink *et al.*, (1997), Binder *et al.* (2000) y Yan *et al.* (2003) reportaron que el alelo benéfico es el A ya que se relaciona con resistencia a infecciones causadas por *E. coli* en lechones en maternidad y obtener, como consecuencia, mayor número de lechones destetados por ser resistentes a diarreas causadas por *E. coli*.

Cuadro 3. Frecuencias génicas y genotípicas del FUT1

Grupo	Frecuencia génica		Frecuencia genotípica			Equilibrio de H-W
	A	G	AA	AG	GG	
NA	0.31	0.69	0.01	0.61	0.38	No
NB	0.41	0.59	0	0.82	0.18	No
1A	0.20	0.80	0	0.40	0.60	Si
1B	0.36	0.64	0	0.72	0.28	No
2A	0.38	0.62	0	0.76	0.24	No
2B	0.45	0.55	0	0.92	0.08	No
3A	0.36	0.64	0.02	0.68	0.30	No
3B	0.41	0.59	0	0.82	0.18	No

FUT1 = Alpha 1,2 fucosyltransferasa; NA= Nivel de alta producción; NB= Nivel de baja producción; 1A, 2A y 3A = Marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de alta producción, respectivamente, y 1B, 2B y 3B marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de baja producción, respectivamente. H-W = Hardy-Weinberg.

4.1.4. Gen RBP4

En el cuadro 4 se muestran las frecuencias génicas y genotípicas del gen RBP4. Se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) con la prueba de χ^2 . Se pueden observar frecuencias más altas del alelo A que del alelo B en toda la población, de la misma manera las frecuencias de los genotipos AA son más altas que las de los heterocigotos AB. Además se encontraron altas frecuencias del alelo A en los grupos de alta producción. No se detectaron animales homocigotos BB en esta población y ninguno de los grupos se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Al alelo A se le considera como el alelo favorable para aumentar el tamaño de la camada (Messer *et al.*, 1996; Rothschild, 2000; Linville *et al.*, 2001). Por tal motivo las frecuencias del alelo A encontradas en este estudio resultan alentadoras.

Se han reportado frecuencias de 0.62, 0.67 y 0.85 del alelo A en la línea sintética Duroc/Large White, de la raza Landrace alemán y la raza Duroc, respectivamente (Drogemuller *et al.*, 2001). En este caso las frecuencias del alelo A fueron de 0.84 en el NA y 0.76 en el NB.

Cuadro 4. Frecuencias génicas y genotípicas del RBP4

Grupo	Frecuencia génica		Frecuencia genotípica			Equilibrio de H-W
	A	B	AA	AB	BB	
NA	0.84	0.16	0.69	0.31	0	No
NB	0.76	0.24	0.51	0.49	0	No
1A	0.87	0.13	0.74	0.26	0	No
1B	0.74	0.26	0.48	0.52	0	No
2A	0.82	0.18	0.64	0.36	0	No
2B	0.74	0.26	0.48	0.52	0	No
3A	0.84	0.16	0.68	0.32	0	No
3B	0.79	0.21	0.58	0.42	0	No

RBP4 = Retinol binding protein 4; NA= Nivel de alta producción; NB= Nivel de baja producción; 1A, 2A y 3A = Marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de alta producción, respectivamente, y 1B, 2B y 3B marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de baja producción, respectivamente. H-W = Hardy-Weinberg.

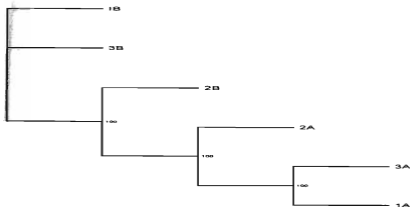
4.2. Distancias genéticas y árboles filogenéticos

Con la información de las frecuencias génicas se obtuvieron distancias genéticas y a partir de ellas se obtuvieron árboles filogenéticos para todos los genes por separado. Las distancias genéticas calculadas para el gen ESR se muestran en el cuadro 5. El gen ESR se agrupó de acuerdo al nivel de producción con distancias genéticas menores a 0.0001 de los grupos incluidos en el nivel de baja producción, lo cual indica similitud entre ellos y se puede observar claramente en la figura 3. Las distancias genéticas de los grupos de 1A, 2A y 3A son mayores con los grupos de baja producción. En la figura 3 se distinguen dos grupos principales, el primero incluye todas las marranas del nivel de baja producción y el segundo grupo incluye todas las marranas del nivel de alta producción, indistintamente de su paridad.

Cuadro 5. Distancias estándar de Nei entre grupos de producción (GP) del gen ESR

GP	1B	2A	2B	3A	3B
1A	0.0116	0.0060	0.0096	0.0098	0.0096
1B		0.0009	0.0001	0.0432	0.0001
2A			0.0004	0.0313	0.0004
2B				0.0391	0.0000
3A					0.0391

1A, 2A y 3A = Marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de alta producción, respectivamente, y 1B, 2B y 3B marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de baja producción.



18

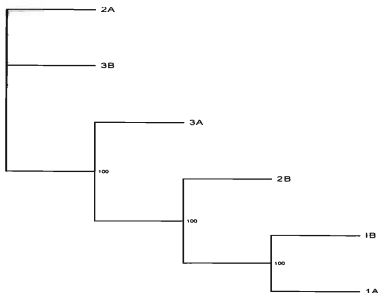
Figura 3. Árbol filogenético (Neighbor-Joining) que muestra los valores del bootstrap considerando las distancias genéticas de todos los grupos de producción estudiados para el gen ESR.

Las distancias genéticas del gen PRLR no fueron similares dentro de cada nivel de producción si no que resultaron similitudes entre los grupos de alta con grupos de baja producción. La menor distancia genética es obtenida entre el grupo 1B con 2B, 2A con 3A y 2A con 3B, cuadro 6. Al observar el árbol filogenético este gen no agrupa de acuerdo al nivel de producción, figura 4.

Cuadro 6. Distancias estándar de Nei entre grupos de producción (GP) del gen PRLR

GP	1B	2A	2B	3A	3B
1A	0.0006	0.0243	0.0014	0.0202	0.0288
1B		0.0172	0.0002	0.0138	0.0211
2A			0.0141	0.0002	0.0002
2B				0.0110	0.0176
3A					0.0008

1A, 2A y 3A = Marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de alta producción, respectivamente, y 1B, 2B y 3B marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de baja producción.



10

Figura 4. Árbol filogenético (Neighbor-Joining) que muestra los valores del bootstrap considerando las distancias genéticas de todos los grupos de producción estudiados para el gen PRLR

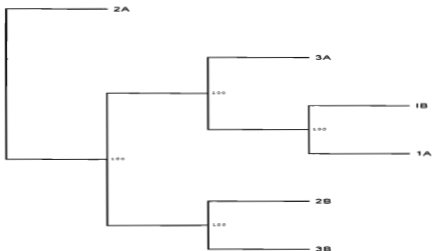
La mayor distancia genética que existe en el gen FUT1 es la del grupo 1A con el grupo 2B, no existe distancia (0.0000) entre el grupo 1B y el 3A, grupos menos distantes del 3A son el 1A y el 2A (cuadro 7). Los grupos del nivel de alta producción están cercanos genéticamente y los grupos del nivel de baja producción están cercanos entre sí, esto se puede apreciar en el árbol filogenético (figura 5). Sin

embargo las cerdas en grupos de 1A y 1B, de primer parto, no se agrupan adecuadamente.

Cuadro 7. Distancias estándar de Nei entre grupos de producción (GP) del gen FUT1

GP	1B	2A	2B	3A	3B
1A	0.0362	0.0472	0.1100	0.0362	0.0671
1B		0.0007	0.0188	0.0000	0.0045
2A			0.0122	0.0007	0.0017
2B				0.0188	0.0048
3A					0.0045

1A, 2A y 3A = Marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de alta producción, respectivamente, y 1B, 2B y 3B marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de baja producción.



10

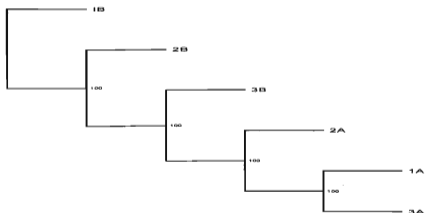
Figura 5. Árbol filogenético (Neighbor-Joining) que muestra los valores del bootstrap considerando las distancias genéticas de todos los grupos de producción estudiados para el gen FUT1

En el cuadro 8, para el gen RBP4, se aprecia en general que existen menos distancias entre poblaciones de marranas que pertenecen al nivel de baja producción (1B, 2B y 3B) así como entre marranas que pertenecen al nivel de alta producción (1A, 2A y 3A). En el análisis de este gen, se formaron dos grupos, con altos valores del bootstrap, uno que incluye a todas las marranas de alta producción y otro que incluye a las marranas de baja producción, figura 6.

Cuadro 8. Distancias estándar de Nei entre grupos de producción (GP) del gen RBP4

GP	1B	2A	2B	3A	3B
1A	0.0256	0.0042	0.0256	0.0015	0.0103
1B		0.0090	0.0000	0.0145	0.0034
2A			0.0090	0.0006	0.0014
2B				0.0145	0.0034
3A					0.0039

1A, 2A y 3A = Marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de alta producción, respectivamente, y 1B, 2B y 3B marranas de primer parto, de 2 a 4 partos y de 5 partos en adelante de baja producción.



28

Figura 6. Árbol filogenético (Neighbor-Joining) que muestra los valores del bootstrap considerando las distancias genéticas de todos los grupos de producción estudiados para el gen RBP4

4.3. Contrastes Órtogonales

4.3.1. Contrastes Ortogonales para analizar el gen ESR.

4.3.1.1. Análisis para genotipos encontrados en el gen ESR.

En el Análisis de Varianza el efecto del genotipo del gen ESR fue significativo ($p < 0.05$) sobre las variables LD, PAJ21, VRDC y con $p = 0.08$ sobre LNV. Al hacer la comparación de medias con contrastes ortogonales del genotipo AA contra el genotipo AB, sin considerar el nivel de producción ni la paridad, el genotipo AB resultó ser significativo ($p < 0.05$) para las variables LD, PAJ21, VRDC y con $p = 0.08$ la variable LNV. Encontrando una diferencia de 0.3 LD, 2.9 de PAJ21, 8.6 puntos de VRDC y 0.4 LNV a favor del genotipo AB (cuadro 9).

Como se ha reportado de que el alelo B es el favorable para aumentar el tamaño de la camada en cerdos (Rothschild *et al.*, 1996; Short *et al.*, 1997; Chen *et al.*, 2000; Isler *et al.*, 2002; Goliasova and Wolf, 2004 y Horogh *et al.*, 2005), en este estudio las cerdas con una copia del alelo B tienen mejor desempeño reproductivo que las cerdas homocigotas AA.

Cuadro 9. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de los genotipos encontrados en el gen ESR

Variables	Genotipo AA			Genotipo AB		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	165	10.3	2.4	135	10.7	2.2
LNV	165	9.3	2.3	135	9.7	2.1
PNAC	165	13.7	3.3	135	14.3	2.8
LD	165	8.4	1.3	135	8.7	0.9
PAJ21	165	56.1	10.7	135	59.0	10.6
VRDC	165	98.3	9.9	135	101.9	9.8

LNT = Número de lechones nacidos totales; LNV = Número de lechones nacidos vivos; PNAC = Peso de la camada al nacimiento; LD = Número de lechones destetados; PAJ21 = Peso de la camada al destete; VRDC = Valor reproductivo de la cerda.

4.3.1.2. Análisis para genotipos del ESR dentro de niveles de producción.

No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) para ninguna de las variables en ningún nivel de producción cuando se compararon los genotipos AA contra los genotipos AB sin importar el número de partos. Como se puede observar en el cuadro 10 los promedios de todas las variables del nivel alto AA y nivel alto AB fueron similares. Así mismo los promedios del nivel bajo AA y nivel bajo AB.

A pesar de la alta frecuencia del genotipo AB en el nivel de alta producción no hubo diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) de dicho genotipo sobre características reproductivas.

Cuadro 10. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada nivel de producción y cada genotipo del gen ESR

Variables	Nivel alto AA			Nivel alto AB			Nivel bajo AA			Nivel bajo AB		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	68	11.6	1.7	82	11.7	1.5	97	9.42	2.4	53	9.3	2.5
LNV	68	10.8	1.6	82	10.6	1.5	97	8.3	2.1	53	8.3	2.1
PNAC	68	15.9	2.2	82	15.5	1.7	97	12.1	3.0	53	12.3	3.1
LD	68	9.4	0.8	82	9.2	0.7	97	7.7	1.2	53	7.9	0.9
PAJ21	68	65.4	5.7	82	65.2	7.3	97	49.5	8.2	53	49.4	7.3
VRDC	68	109.2	3.6	82	109.4	3.3	97	90.7	3.7	53	90.6	4.0

LNT = Número de lechones nacidos totales; LNV = Número de lechones nacidos

vivos; PNAC = Peso de la camada al nacimiento; LD = Número de lechones

destetados; PAJ21 = Peso de la camada al destete; VRDC = Valor reproductivo de la cerda

4.3.1.3. Análisis para genotipos del ESR dentro de grupos de paridad y nivel de producción.

En el gen ESR se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p=0.05$) en la comparación de medias por contrastes ortogonales, observando que el genotipo AA fue significativo para la variable LD con 0.6 lechones más que el genotipo AB de las marranas del grupo 1A, para la misma variable se encontraron diferencias significativas ($p=0.08$) en la comparación del grupo 2BAA contra el grupo 2BAB, observando que el promedio del genotipo AB fue mayor con 0.4 LD más que el genotipo AA (cuadro 11).

El PNAC también fue afectado significativamente ($p=0.08$) por el genotipo AB con una diferencia de 1.2 Kg sobre el genotipo AA en el grupo 2B.

Cuadro 11. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada grupo y cada genotipo del gen ESR

Variables	General			1AAA			1AAB			1BAA		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	300	10.5	2.3	23	11.7	1.8	27	12.1	1.9	33	8.2	2.8
LNV	300	9.4	2.2	23	11.4	1.9	27	11.1	2.1	33	7.1	2.7
PNAC	300	13.9	3.1	23	16.5	3.0	27	15.7	2.0	33	10.3	10.3
LD	300	8.5	1.2	23	9.7	0.9	27	9.1	0.9	33	7.3	1.4
PAJ21	300	57.3	10.7	23	66.4	6.4	27	66.4	9.1	33	44.3	9.0
VRDC	300	99.9	9.9	23	107.9	2.7	27	107.6	2.4	33	92.4	2.6

LNT = Número de lechones nacidos totales; LNV = Número de lechones nacidos

vivos; PNAC = Peso de la camada al nacimiento; LD = Número de lechones

destetados; PAJ21 = Peso de la camada al destete; VRDC = Valor reproductivo de la cerda

Continúa cuadro 11...

Variables	1BAB			2AAA			2AAB			2BAA		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	17	7.9	3.4	30	11.7	1.9	20	11.2	1.1	32	9.6	2.0
LNV	17	6.8	2.8	30	10.6	1.6	20	10.1	1.3	32	8.4	1.5
PNAC	17	9.7	3.6	30	15.8	1.7	20	15.2	1.7	32	12.4	2.2
LD	17	7.6	1.1	30	9.2	0.7	20	9.4	0.6	32	7.6	1.2
PAJ21	17	44.2	6.0	30	64.7	5.7	20	67.8	5.4	32	50.6	6.7
VRDC	17	92.0	1.9	30	109.3	3.1	20	108.7	3.4	32	89.5	3.7

Continúa cuadro 11...

Variables	2BAB			3AAA			3AAB			3BAA		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	18	9.5	1.8	15	11.3	1.2	35	11.5	1.2	32	10.5	1.5
LNV	18	8.8	1.3	15	10.2	0.8	35	10.5	0.9	32	9.3	1.4
PNAC	18	13.6	2.2	15	15.2	1.4	35	15.6	6.5	32	13.8	1.8
LD	18	8.0	0.9	15	9.2	0.5	35	9.1	0.6	32	8.3	0.8
PAJ21	18	50.7	8.5	15	65.3	4.6	35	63.9	6.5	32	53.7	5.6
VRDC	18	90.9	4.4	15	111.1	4.9	35	110.6	3.4	32	89.9	4.0

Continúa cuadro 11...

Variables	3BAB		
	N	Prom	DE
LNT	18	10.3	1.3
LNV	18	9.3	1.0
PNAC	18	13.4	13.4
LD	18	8.2	0.5
PAJ21	18	52.8	4.1
VRDC	18	88.9	5.6

4.3.2. Contrastes Ortogonales para analizar el gen PRLR

4.3.2.1. Análisis para genotipos encontrados en el gen PRLR

En el Análisis de Varianza no hubo diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) de los genotipos encontrados en el gen PRLR sobre ninguna de las variables en estudio, es decir, estadísticamente los promedios de las variables son iguales en cualquier genotipo (cuadro 12).

Se esperaba relación del genotipo AA con altos promedios de las variables en estudio, ya que otros investigadores han encontrado que el alelo A es el deseable para tamaño de la camada. Sin embargo, es probable que el gen PRLR por si mismo no tenga afecto sobre el comportamiento reproductivo sino que necesite estar ligado a otros genes para relacionarse con el comportamiento reproductivo.

Cuadro 12. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de los genotipos encontrados en el gen PRLR

Variables	Genotipo AA			Genotipo AB			Genotipo BB		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	23	10.6	1.9	169	10.4	2.3	108	10.6	2.5
LNV	23	9.6	2.0	169	9.4	2.1	108	9.6	2.4
PNAC	23	14.5	2.5	169	13.7	13.7	108	14.1	3.5
LD	23	8.5	1.4	169	8.5	1.2	108	8.6	1.2
PAJ21	23	59.9	9.3	169	57.1	10.9	108	57.2	10.9
VRDC	23	100.6	12.7	169	100.1	9.9	108	99.5	9.4

LNT = Número de lechones nacidos totales; LNV = Número de lechones nacidos vivos; PNAC = Peso de la camada al nacimiento; LD = Número de lechones destetados; PAJ21 = Peso de la camada al destete; VRDC = Valor reproductivo de la cerda

4.3.2.2. Análisis para genotipos del PRLR dentro de niveles de producción

En el análisis de contrastes ortogonales dentro de niveles de producción sólo hubo significancia estadística ($p < 0.001$) para la variable LD. El promedio del genotipo BB fue de más 0.1 y 0.4 LD que el promedio de los genotipos AB y AA, respectivamente, del nivel de baja producción (cuadro 13).

Cuadro 13. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada nivel de producción y cada genotipo del gen PRLR

Variables	Nivel alto AA			Nivel alto AB			Nivel alto BB			Nivel bajo AA		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	13	11.6	1.3	84	11.4	1.5	53	12.0	1.7	10	9.4	1.9
LNV	13	10.6	1.8	84	10.5	1.3	53	11.1	1.8	10	8.4	1.6
PNAC	13	15.9	1.8	84	15.4	1.7	53	16.1	2.3	10	12.7	2.3
LD	13	9.3	0.8	84	9.3	0.6	53	9.2	0.9	10	7.5	1.4
PAJ21	13	65.6	7.2	84	65.5	6.0	53	64.9	7.4	10	52.5	5.8
VRDC	13	110.5	5.1	84	109.4	3.4	53	108.5	2.9	10	87.7	5.7

LNT = Número de lechones nacidos totales; LNV = Número de lechones nacidos vivos; PNAC = Peso de la camada al nacimiento; LD = Número de lechones destetados; PAJ21 = Peso de la camada al destete; VRDC = Valor reproductivo de la cerda

Continúa cuadro 13...

Variables	Nivel bajo AB			Nivel bajo BB		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	85	9.4	2.5	55	9.3	2.4
LNV	85	8.2	8.3	55	8.3	2.2
PNAC	85	12.1	2.9	55	12.2	3.4
LD	85	7.8	1.1	55	7.9	1.1
PAJ21	85	48.8	7.7	55	49.9	8.4
VRDC	85	90.1	3.9	55	90.8	3.1

4.3.2.3. Análisis para genotipos del PRLR dentro de grupos de paridad y nivel de producción.

En la comparación de medias con contrastes ortogonales el genotipo BB fue significativo ($p=0.03$) con más 0.5 LNT, 1.2 LNV y 1.5 Kg de PNAC cuando se comparo contra el genotipo AB en las marranas del grupo 1A.

En la comparación del grupo 1BAA contra 1BAB el genotipo AB mejoró significativamente ($p<0.01$) la variable LD con más 2.5 lechones y en la comparación del grupo 1BAA contra 1BBB, el genotipo BB tuvo diferencias significativas ($p<0.01$) de más 2.4 lechones. Sin embargo, se debe considerar que sólo una marrana tiene el genotipo AA en el grupo 1B.

En la variable PAJ21 el promedio del genotipo AB fue superior ($p<0.06$) a los genotipos AA y BB con +3.2 Kg y 8.2 Kg por camada, respectivamente, en el grupo 1A.

En marranas del grupo 3A y 3B el genotipo AA fue significativo ($p<0.05$) sobre LD cuando se comparó con los genotipos AB y BB. El grupo 3AAA tiene más 0.3 y 0.5 LD que el grupo 3AAB y el grupo 3ABB, respectivamente. De la misma manera el genotipo AA mejora significativamente ($p<0.05$) con 1.7 puntos de VRDC a las marranas del grupo 3ABB.

En esta población el genotipo BB se está relacionando con el comportamiento reproductivo en las marranas de primer parto de cualquier nivel de producción, sin embargo, el genotipo AA se expresa con mejores promedios de las variables reproductivas en marranas con más de 5 partos en cualquier nivel de producción (Cuadro 14).

Cuadro 14. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada grupo y cada genotipo del gen PRLR

Variables	General			1AAA			1AAB			1ABB		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	300	10.5	2.3	3	12.0	1.7	23	11.2	1.6	24	12.7	1.8
LNV	300	9.5	2.2	3	11.0	3.5	23	10.6	1.7	24	11.8	1.9
PNAC	300	13.9	3.1	3	15.9	2.1	23	15.3	2.1	24	16.8	2.8
LD	300	8.5	1.2	3	8.7	1.5	23	9.5	0.8	24	9.4	0.9
PAJ21	300	57.4	10.8	3	60.5	8.8	23	68.7	5.9	24	65.0	9.0
VRDC	300	99.9	9.9	3	105.6	0.2	23	107.9	2.3	24	107.9	2.8

LNT = Número de lechones nacidos totales; LNV = Número de lechones nacidos vivos; PNAC = Peso de la camada al nacimiento; LD = Número de lechones destetados; PAJ21 = Peso de la camada al destete; VRDC = Valor reproductivo de la cerda

Continua cuadro 14...

Variables	1BAA			1BAB			1BBB			2AAA		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	1	5.0	0	29	8.0	3.0	20	8.4	3.1	5	11.9	1.5
LNV	1	5.0	0	29	6.9	2.6	20	7.2	2.8	5	10.9	1.5
PNAC	1	8.1	0	29	10.0	3.4	20	10.3	3.9	5	15.8	1.9
LD	1	5.0	0	29	7.5	1.3	20	7.4	1.3	5	9.5	0.3
PAJ21	1	48.2	0	29	44.7	8.3	20	43.4	7.9	5	63.9	4.2
VRDC	1	92.9	0	29	92.1	2.7	20	92.5	2.1	5	111.2	4.8

Continua cuadro 14...

Variables	2AAB			2ABB			2BAA			2BAB		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	31	11.3	1.7	14	11.7	1.7	2	9.0	1.4	28	9.6	1.9
LNV	31	10.3	1.3	14	10.5	1.7	2	7.8	7.8	28	8.5	1.5
PNAC	31	15.3	1.5	14	15.9	1.9	2	11.6	0.7	28	12.7	2.1
LD	31	9.3	0.5	14	9.1	1.0	2	6.1	0.2	28	7.6	1.1
PAJ21	31	64.7	5.5	14	66.5	6.3	2	48.0	5.2	28	49.8	7.9
VRDC	31	108.8	3.1	14	108.8	2.6	2	87.5	7.7	28	90.4	4.3

Continua cuadro 14...

Variables	2BBB			3AAA			3AAB			3ABB		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	20	9.5	1.9	5	10.9	0.8	30	11.7	1.2	15	11.3	1.2
LNV	20	8.7	1.5	5	9.9	1.0	30	10.6	0.8	15	10.2	0.9
PNAC	20	13.0	2.6	5	15.9	1.9	30	15.6	1.4	15	15.1	1.4
LD	20	8.0	1.1	5	9.4	0.5	30	9.1	0.6	15	8.9	0.6
PAJ21	20	52.1	6.5	5	70.4	7.0	30	63.9	5.6	15	63.1	5.1
VRDC	20	89.8	3.4	5	112.8	5.4	30	111.1	3.8	15	109.3	3.1

Continua cuadro 14...

Variables	3BAA			3BAB			3BBB		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	7	10.1	1.2	28	10.6	1.4	15	10.1	1.5
LNV	7	9.1	1.1	28	9.4	1.1	15	9.1	1.5
PNAC	7	13.7	1.6	28	13.6	1.5	15	13.7	2.3
LD	7	8.3	0.8	28	8.1	0.7	15	8.5	0.6
PAJ21	7	54.4	5.7	28	52.1	4.7	15	55.5	5.3
VRDC	7	87.0	5.8	28	90.0	4.3	15	89.9	3.0

4.3.3. Contrastes Ortogonales para analizar el gen FUT1

4.3.3.1. Análisis para genotipos encontrados en el gen FUT1

En el Análisis de Varianza el efecto del genotipo del gen FUT1 fue significativo ($p < 0.05$) sobre las variables PAJ21, VRDC, LNV y PNAC. En la comparación con contrastes ortogonales se comparo el genotipo AG contra el GG. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) a favor del genotipo GG mejorando 3 Kg de PAJ21, 3.9 puntos de VRDC, 0.6 LNV y 0.8 Kg de PNAC contra el genotipo AG (cuadro 15).

Estos resultados tienen concordancia con los de Horák *et al.* (2005) que reportó que las cerdas con genotipo AA tuvieron menor número de lechones nacidos totales, lechones nacidos vivos y lechones destetados que las cerdas con genotipo GG.

Cuadro 15. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de los genotipos encontrados en el gen FUT1

Variables	Genotipo AG			Genotipo GG		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	215	10.4	2.1	84	10.8	2.7
LNV	215	9.3	2.0	84	9.9	2.5
PNAC	215	13.7	2.9	84	14.5	3.4
LD	215	8.5	1.2	84	8.7	1.3
PAJ21	215	56.5	10.4	84	59.5	11.3
VRDC	215	98.8	9.7	84	102.7	10.1

LNT = Número de lechones nacidos totales; LNV = Número de lechones nacidos vivos; PNAC = Peso de la camada al nacimiento; LD = Número de lechones destetados; PAJ21 = Peso de la camada al destete; VRDC = Valor reproductivo de la cerda

4.3.3.2. Análisis para genotipos del FUT1 dentro de niveles de producción

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la comparación de los genotipos dentro de los niveles. En el nivel de baja producción el genotipo AG fue mejor con más 0.9 LNT y 1.8 puntos de VRDC que el genotipo GG (cuadro 16).

Cuadro 16. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada nivel de producción y cada genotipo del gen FUT1

Variables	Nivel alto AG			Nivel alto GG			Nivel bajo AG			Nivel bajo GG		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	92	11.5	1.4	57	11.9	1.8	123	9.5	2.2	27	8.6	3.1
LNV	92	10.6	1.4	57	10.9	1.8	123	8.3	1.9	27	8.0	2.8
PNAC	92	15.6	1.8	57	15.9	2.1	123	12.3	2.8	27	11.6	3.8
LD	92	9.3	0.7	57	9.2	0.9	123	7.9	1.1	27	7.7	1.4
PAJ21	92	65.5	6.6	57	64.9	6.8	123	49.8	7.2	27	48.0	10.4
VRDC	92	109.2	3.5	57	109.1	3.3	123	91.0	3.4	27	89.2	5.0

LNT = Número de lechones nacidos totales; LNV = Número de lechones nacidos

vivos; PNAC = Peso de la camada al nacimiento; LD = Número de lechones

destetados; PAJ21 = Peso de la camada al destete; VRDC = Valor reproductivo de la cerda

4.3.3.3. Análisis para genotipos del FUT1 dentro de grupos de paridad y nivel de producción

Las variables LNT y PAJ21 fueron influidas significativamente ($p < 0.05$) por el genotipo AG en las marranas del grupo 2B. Los promedios de los animales heterocigotos mejoraron con más 1.8 LNT y 0.4 kg de PAJ21 a los animales homocigotos GG. Se debe señalar que el tamaño de muestra del grupo 2BGG es muy pequeño (4 observaciones).

Por otro lado, el genotipo GG mejoró ($p < 0.05$) la variable LNV con 0.9 lechones más que el genotipo AG en el grupo 1B (cuadro 17).

Cuadro 17. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada grupo y cada genotipo del gen FUT1

Variables	General			1AAG			1AGG			1BAG		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	300	10.5	2.3	20	11.6	1.8	30	12.2	1.9	36	8.1	2.6
LNV	300	9.5	2.2	20	11.2	1.9	30	11.2	2.1	36	6.8	2.2
PNAC	300	13.9	3.1	20	16.2	2.5	30	15.9	2.6	36	9.9	3.0
LD	300	8.5	1.2	20	9.3	0.9	30	9.5	0.9	36	7.5	1.2
PAJ21	300	57.4	10.8	20	67.3	8.6	30	65.9	7.5	36	44.9	7.3
VRDC	300	99.9	9.9	20	108.0	3.1	30	107.6	2.1	36	92.2	2.3

LNT = Número de lechones nacidos totales; LNV = Número de lechones nacidos

vivos; PNAC = Peso de la camada al nacimiento; LD = Número de lechones

destetados; PAJ21 = Peso de la camada al destete; VRDC = Valor reproductivo de la cerda

Continúa cuadro 17...

Variables	1BGG			2AAG			2AGG			2BAG		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	14	8.1	4.0	38	11.3	1.4	12	12.1	2.0	46	9.7	1.8
LNV	14	7.7	3.7	38	10.2	1.4	12	10.9	1.7	46	8.7	1.4
PNAC	14	10.6	4.9	38	15.3	1.7	12	16.1	1.7	46	12.9	2.2
LD	14	7.2	1.5	38	9.4	0.5	12	8.9	0.9	46	7.8	1.1
PAJ21	14	42.6	9.8	38	65.5	5.8	12	63.9	4.8	46	50.7	6.9
VRDC	14	92.3	2.8	38	108.8	3.3	12	109.8	2.6	46	90.4	3.6

Continua cuadro 17...

Variables	2BGG			3AAG			3AGG			3BAG		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	4	7.9	2.4	34	11.6	1.2	15	11.1	1.0	41	10.6	1.4
LNV	4	7.3	7.3	34	10.5	0.9	15	10.1	0.7	41	9.4	1.3
PNAC	4	11.1	1.9	34	15.4	1.4	15	15.4	1.3	41	13.8	1.8
LD	4	7.6	1.7	34	9.2	0.5	15	8.8	0.6	41	8.3	0.7
PAJ21	4	50.3	11.9	34	64.5	5.9	15	63.9	6.6	41	53.0	5.1
VRDC	4	85.6	6.3	34	110.5	3.8	15	111.5	4.2	41	90.4	3.8

Continua cuadro 17...

Variables	3BGG		
	N	Prom	DE
LNT	9	9.5	0.9
LNV	9	8.8	0.9
PNAC	9	13.2	1.7
LD	9	8.3	0.8
PAJ21	9	55.1	5.6
VRDC	9	85.8	4.1

4.3.4. Contrastes Ortogonales para analizar el gen RBP4

4.3.4.1. Análisis para genotipos encontrados en el gen RBP4

El efecto del genotipo fue significativo ($p < 0.07$) sobre el desempeño reproductivo. Se hizo una comparación del genotipo AA contra el AB sin considerar el nivel de producción ni el número de parto por medio de contrastes ortogonales y se encontró un efecto significativo del genotipo AA ($p < 0.07$) sobre las variables LNT, PAJ21, VRDC, LNV y PNAC con diferencias de 0.5, 2.6, 3.2, 0.5 y 0.6, respectivamente (cuadro 18).

Igual que los resultados de Rothschild *et al.* (2000) y Messer *et al.* (1996), los resultados de este estudio indican una relación del genotipo AA con aumento en el tamaño de la camada.

Cuadro 18. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de los genotipos encontrados en el gen RBP4

Variables	Genotipo AA			Genotipo AB		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	180	10.7	2.3	120	10.2	2.4
LNV	180	9.7	2.2	120	9.2	2.2
PNAC	180	14.2	2.9	120	13.6	3.2
LD	180	8.6	1.2	120	8.4	1.2
PAJ21	180	58.4	10.9	120	55.8	10.3
VRDC	180	101.2	10.4	120	98.0	8.9

LNT = Número de lechones nacidos totales; LNV = Número de lechones nacidos

vivos; PNAC = Peso de la camada al nacimiento; LD = Número de lechones

destetados; PAJ21 = Peso de la camada al destete; VRDC = Valor reproductivo de la

cerda

4.3.4.2. Análisis para genotipos del RBP4 dentro de niveles de producción

En el nivel de alta producción el genotipo AA del gen RBP4 tuvo un efecto estadístico significativo ($p=0.02$) sobre la variable VRDC y por otro lado el genotipo AB tuvo un efecto significativo ($p=0.01$) sobre el nivel de baja producción. El genotipo AA tuvo más 1.3 puntos de VRDC que el genotipo AB en el NA, mientras que el genotipo AB tuvo más 1.5 puntos de VRDC en el NB (cuadro 19).

Aunque en la población en estudio no se selecciona en base al genotipo, en este caso, el genotipo deseable se relacionó con el nivel de alta producción y el genotipo con una copia del alelo no deseable se relaciono en el nivel de baja producción.

Cuadro 19. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada nivel de producción y cada genotipo del gen RBP4

Variables	Nivel alto AA			Nivel alto AB			Nivel bajo AA			Nivel bajo AB		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	103	11.6	1.6	47	11.6	1.4	77	9.4	2.3	73	9.3	2.4
LNV	103	10.7	1.7	47	10.7	1.3	77	8.3	2.0	73	8.2	2.2
PNAC	103	15.7	2.0	47	15.7	1.9	77	12.2	2.9	73	12.2	3.2
LD	103	9.2	0.8	47	9.4	0.6	77	7.8	1.1	73	7.8	1.1
PAJ21	103	65.4	6.6	47	65.0	6.6	77	49.1	8.2	73	49.8	7.5
VRDC	103	109.6	3.7	47	108.3	2.5	77	89.9	3.9	73	91.4	3.6

LNT = Número de lechones nacidos totales; LNV = Número de lechones nacidos

vivos; PNAC = Peso de la camada al nacimiento; LD = Número de lechones

destetados; PAJ21 = Peso de la camada al destete; VRDC = Valor reproductivo de la cerda

4.3.4.3. Análisis para genotipos del RBP4 dentro de grupos de paridad y nivel de producción

En la comparación de medias de los grupos 2AAA contra 2AAB y el grupo 3AAA contra 3AAB, el genotipo AA resulto mejorar significativamente ($p < 0.07$) la variable VRDC con más 2.1 y 1.8 puntos para el grupo 2AAA y 3AAA, respectivamente. De igual forma el genotipo AA tuvo un efecto significativo ($p = 0.03$) con más 0.6 LD al hacer la comparación del grupo 1AAA contra el 1AAB.

El genotipo AB tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre las variables LD y VRDC cuando se hizo la comparación de medias del grupo 2AAA contra 2BAB. Se encontró que los animales que pertenecen al grupo 2BAB tienen +0.4 LD y +2.4 puntos de VRDC que el grupo 2BAA (cuadro 20).

Cuadro 20. Número de observaciones (N), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de cada grupo y cada genotipo del gen RBP4

Variables	General			1AAA			1AAB			1BAA		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	300	10.5	2.3	37	12.1	1.9	13	11.6	1.8	24	8.3	3.1
LNV	300	9.5	2.2	37	11.4	1.9	13	10.8	1.9	24	6.9	2.6
PNAC	300	13.9	3.1	37	16.1	2.4	13	16.0	2.9	24	9.9	3.5
LD	300	8.5	1.2	37	9.4	1.0	13	9.5	0.7	24	7.7	1.4
PAJ21	300	57.4	10.8	37	66.1	8.1	13	67.4	7.7	24	42.9	7.9
VRDC	300	99.9	9.9	37	107.8	2.5	13	107.7	2.8	24	91.7	2.8

LNT = Número de lechones nacidos totales; LNV = Número de lechones nacidos

vivos; PNAC = Peso de la camada al nacimiento; LD = Número de lechones

destetados; PAJ21 = Peso de la camada al destete; VRDC = Valor reproductivo de la cerda

Continúa cuadro 20...

Variables	1BAB			2AAA			2AAB			2BAA		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	26	7.9	2.9	32	11.4	1.7	18	11.6	1.4	24	9.3	1.9
LNV	26	7.1	2.8	32	10.2	1.6	18	10.7	1.1	24	8.4	1.4
PNAC	26	10.3	3.7	32	15.5	1.9	18	15.7	1.2	24	12.5	1.9
LD	26	7.1	1.2	32	9.3	0.7	18	9.3	0.6	24	7.5	1.1
PAJ21	26	45.5	8.1	32	66.0	5.4	18	63.7	5.7	24	50.3	7.9
VRDC	26	92.8	1.9	32	109.8	3.4	18	107.7	2.2	24	88.8	3.9

Continua cuadro 20...

Variables	2BAB			3AAA			3AAB			3BAA		
	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE	N	Prom	DE
LNT	26	9.8	1.9	34	11.4	1.2	16	11.6	1.3	29	10.4	1.4
LNV	26	8.7	1.6	34	10.3	0.9	16	10.5	0.7	29	9.4	1.1
PNAC	26	13.1	2.5	34	15.4	1.5	16	15.5	1.4	29	13.8	1.5
LD	26	7.9	1.1	34	9.0	0.6	16	9.3	0.5	29	8.2	0.6
PAJ21	26	51.0	6.8	34	64.2	5.9	16	64.7	6.4	29	53.1	5.5
VRDC	26	91.2	3.7	34	111.3	4.3	16	109.5	2.3	29	89.4	4.2

Continua cuadro 20...

Variables	3BAB		
	N	Prom	DE
LNT	21	10.4	1.8
LNV	21	9.0	1.4
PNAC	21	13.4	1.9
LD	21	8.4	0.8
PAJ21	21	53.7	4.9
VRDC	21	89.6	4.3

V. CONCLUSIONES

5.1. Gen ESR

- No se detectaron animales homocigotos BB en la población estudiada
- En el grupo de alta producción el genotipo AB fue más frecuente que el AA
- En diferentes paridades la frecuencia del genotipo AB es mayor en cualquier paridad del nivel de alta producción
- Se encontró una diferencia de 0.3 LD, 2.9 Kg de PAJ21, 8.6 puntos de VRDC y 0.4 LNV a favor del genotipo AB, en la comparación de medias con contrastes ortogonales
- El grupo 1AAA fue mejor con 0.6 LD que el grupo 1AAB
- El grupo 2BAB fue mejor con 0.4 LD y 1.2 Kg de PNAC que el grupo 2AAA

5.2. Gen PRLR

- No hubo dependencia de las frecuencias génicas y genotípicas con los grupos de producción. La frecuencia del alelo A fue similar a la del alelo B, al igual que la frecuencia del genotipo AB y AA en cualquier paridad de los niveles de alta y baja producción
- El genotipo BB se relaciono con el comportamiento reproductivo en las marranas del grupo 1A y 1B
- El genotipo AA se relaciono con el comportamiento reproductivo en las marranas del grupo 3A y 3B

5.3. Gen FUT1

- Sólo un animal tuvo el genotipo AA
- El alelo G y el genotipo GG fue más frecuente en los grupos de alta producción en cualquier paridad
- El genotipo GG fue superior que el alelo AG con 3 Kg de PAJ21, 3.9 puntos de VRDC, 0.6 LNV y 0.8 Kg de PNAC

5.4. Gen RBP4

- No se detectaron animales homocigotos al alelo B
- El alelo A se encuentra con mayor frecuencia que el alelo B
- El genotipo AA es más frecuente en los grupos de alta producción de cualquier paridad
- Marranas con genotipo AA tienen más 0.5 LNT, 2.6 KG de PAJ21, 3.2 puntos de VRDC, 0.5 LNV y 0.6 Kg de PNAC
- El genotipo AA se relaciona con el nivel de alta producción en cualquier paridad
- El genotipo AA influye en alta producción mejorando la variable LD y VRDC en todas las paridades

- La mayoría de los genes no se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg en los grupos estudiados
- Los árboles filogenéticos obtenidos mediante el análisis Neighbor-Joining presentaron una topología similar, se observó una clara separación entre el nivel de alta producción y el nivel de baja producción con todos los genes excepto el gen PRLR.

VI. LITERATURA CITADA

1. Anderson, L.; Haley, C.S.; Ellegren, H.; Knott, S.A.; Johansson, M.; Andersson, K.; Andersson-Eklund, L.; Edfors-Lilja, I.; Fredholm, M.; Hansson, I.; Hakansson, J. and Lundstroms K.: Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in the pig. *Science*. 263:1771. (1994).
2. Arredondo, P.R.: La reacción en cadena de la polimerasa, PCR: un impacto reciente en la biología molecular. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. (1993).
3. Ashwell, M.S.; Rexroad, C.E.; Miller, R.H.; Van Randen, P.M. and Da Y.: Detection of loci affecting milk production and health traits in an elite US Holstein population using microsatellite markers. *Animal Genetics*. 28:216-222. (1997).
4. Beever, J.E.; George, P.D.; Fernando, R.L.; Stormont, C.J. and Lewin, H.A.: Associations between genetic markers and growth and carcass traits in a parental halfsib family of Angus cattle. *Journal of Animal Science*. 68:337. (1990).
5. Binder, S.; Götz K-U.; Thaller, G. and Fries, R.: Effects of variation in the FUT1 gene on various traits in swine. *Technische Universität München*. 0:E006. (2002).
6. Birgitte, T.T.M.; Evans, J.G. and Van Der Lende, T.: Components of litter size in gilts with different prolactin receptor genotypes. Elsevier, *Theriogenology*. 59:915-926. (2003).

7. Boom, M.V.: Polymerase Chain Reaction.
http://www.accessexcellence.com/RC/CT/polymerase_chain_reaction.html.
(2004).
8. Boscherini, G.; Morgante, M.; Rossi, P.; Vendramin, G.G. and Vicario, F.:
Detection of DNA polymorphisms in *Pinus Leucodermis* Ant. using random
amplification. *Forest Genetics*. 1(3):131-137. (1994).
9. Chen, K.F.; Huang, L.S.; Li, N.; Zhang, Q.; Luo, M. and Wu, C.X.: The
genetic effect of estrogen receptor (ESR) on litter size traits in pig. *Yi
Chuan Xue Bao*. 27(10):853-857. (2000).
10. Ciobanu, C.D.; Day, E.A.; Nagy, A.; Wales, R.; Rothschild, M.F. and
Plastow, S.G.: Genetic variation in two conserved local Romanian pig
breeds using type 1 DNA markers. *Genet. Sel. Evol.* 33 (2001) 417-432.
INRA EDP Sciences. (2001).
11. Drinkwater, R.D. and Hatzel, D.J.S.: Application of molecular biology to
understanding symposium on nuclear techniques in animal production and
health. IAEA,FAO. Viena,15-19 April, 1991:437-452. (1991).
12. Drogemuller, C.; Hamann, H. and Dist, O.: Candidate gene markers for
litter size in differet German pig lines. *J. Anim. Sci.* 79:2565-2570. (2001).
13. Falconer, D.S.: Introduction to quantitative genetics. 2a. Ed. Longman Ltd.
Londres. (1981).
14. Felsenstein, J.: Phylip (Phyloperny Inference Package) Ver. 3.57c. Joseph
Felsenstein and University of Washington. (1995).
15. Georges, M.; Nielsen, D.; Mackinon, M.; Mishar, A.; Okimoto, R.; Pasquino,
A.T.; Serageant, L.; Sorensen, A.; Steele, M.R.; Zhao, X.; Womarck, J.E.

- and Hoeschele, I.: Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics*. 130:907-920. (1995).
16. Goliasova, E. and Wolf J.: Impact of the ESR gene on litter size and production traits in Czech Large White pigs. *Animal Genetics*. 35(4):293-297. (2004).
17. Groenen, M.A.M.; Joosten, R.; Boscher, M-Y.; Amigues, Y.; Rattink, A.; Harlizius, B.; Van der Poel, J.J. and Crooijmans, R.: The use of microsatellite genotyping for population studies in the pig with individual and pooled DNA samples. *Archivos de Zootecnia*. 52:145-155. (2003).
18. Hagelberg, E.; Gray, I.C. and Jeffreys, A.J.: Identification of skeletal remains of a murder victim by DNA analysis. *Nature*. 352:427-429. (1991).
19. Haley, C.S.: Livestock QTL-bringing home the bacon. *Trends in Genetics*. 11:488-492. (1995).
20. Henderson, C.R.: Applications of linear models in animal breeding. University of Guelph. Guelph, Canada. (1984).
21. Herrera, H.J.G.; Lemus, F.C. y Barreras S.A.: Mejoramiento genético animal, un enfoque aplicado. 1ª. Ed. Colegio de postgraduados. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. (2003).
22. Hershman, J.: Fundamentos de endocrinología. Ed. Interamericana. México. (1981).
23. Horák, P.; Urban, T. and Dvolák, J.: The FUT1 and ESR genes – their variability and associations with reproduction in Prestice Black-Pied sows. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. Vol. 122:210 (2005).

32. Linville, R.C.; Pomp, D.; Johnson, R.K. and Rothschild, M.F.: Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. *J. Animal Sci.* 79:60-67. (2001).
33. Martínez, C.F.E.; Herrera, H.J.G.; García, C.A.D. y Pérez, P.J.: Indicadores productivos y de sustentabilidad económica de granjas porcinas urbanas en el norte de México D. F. (Resultados Preliminares). *Archivos de Zootécnica.* 52: 101-104. (2003).
34. McDonnell, P.D.: The molecular determinants of estrogen receptor pharmacology. Elsevier Science. *Maturitas* 48 Suppl. 1. S7-S12. USA. (2004).
35. Meijerink, E.; Fries, R.; Vögeli, P.; Masabanda, J.; Wigger, G.; Stricker, C.; Neuenschwander, S.; Bertschinger, H.U. and Stranzinger, G.. Two $\alpha(1,2)$ fucosyltransferase genes on porcine chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (*s*) and *Escherichia coli* F18 receptor (ECF18R) loci. *Mammalian Genome.* 8:736-741. (1997).
36. Meijerink, E.; Neuenschwander, S.; Fries, R.; Dintel, A.; Bertschinger, H.U.; Stranzinger, G. and Vögeli, P.: A DNA polymorphism influencing $\alpha(1,2)$ fucosyltransferase activity of the pig FUT1 enzyme determines susceptibility of small intestinal epithelium to *Escherichia coli* F18 adhesion. *Immunogenetics.* 52:129-136. (2000).
37. Messer, L.; Wang, L.; Yelich, J.; Pomp, D.; Geisert, R. and Rothschild M.F.: Linkage mapping of the retinol-binding protein (*RBP4*) gene to porcine chromosome 14. *Mamm Genome* 7:396. (1996).

24. Horogh, G.; Zsolnai, A.; Komlósi, I.; Nyíri, A.; Anton, I. And Fésűs, L.:
Oestrogen receptor genotypes and litter size in Hungarian Large White pigs. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. Vol. 122:56 (2005).
25. Innis, M.A.; Gelfand, D.H. and Sninsky, J.J.: *PCR Protocols*. Academic Press, Inc. San Diego California. (1990).
26. Isler, B.J.; Invin, K.M.; Neal, S.M.; Moeller, S.J. and Davis, M.E.:
Examination of the relationship between the estrogen receptor gene and reproductive traits in swine. *J. Anim. Sci.* 80:2334-2339. (2002).
27. Jeffereys, A.; Wilson, V.; Thein, S.L.; Weatherall, D.J. and Ponder, B.A.:
DNA "fingerprint" and segregation analysis of multiple markers in human pedigrees. *Am. J. Hum. Genet.* 39:11-24. (1986).
28. Jiménez, P. y Collada, C.: *Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación*. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España. (2000).
29. Jubiz, W.: *Endocrinología clínica*. 3ª. Edición. Ed. El Manual moderno, S.A. de C.V. México. (1996).
30. Korwin, K.A.; Kamyczek, M.; Cieslak, D.; Pierzchala, M. and Kuryl, J.:
Candidate gene markers for reproductive traits in polish 990 pig line. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. Vol. 120 (3): 181-191. (2003).
31. Linville, R.; Johnson, R. and Pomp, D.: Candidate reproductive genes do not explain responses in lines selected for ovulation rate and litter size. *Nebraska Swine Report*. (2001).

38. Montaldo, H. y Barria N.: Mejoramiento genético de animales. Ciencias Biológicas. México. (1998).
39. Montaldo, H.H. y Meza, H.C.A.: Uso de marcadores moleculares y de genes importantes en la mejora genética del ganado. Electronic Journal of Biotechnology. ISSN: 0717-3458. (1998).
40. Nalubola, R. and Nestel, P.: The effect of vitamin A nutriture on health. A review. IISI Press 6. (1999).
41. National Swine Improvement Federation. Guidelines for improve uniform programs in swine. West Lafayette: Purdue Univ. Coop. Ext. Ser. (1995).
42. Nei, M.: Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press. New York. (1987).
43. Nei, M.: Genetic distances between populations. Am. Nat. 106:283-292. (1972).
44. Nei, M.; Tajima, F. and Tateno, Y.: Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. J. Mol. Evol. 19:153-170. (1983).
45. Noguera, J. L.; Varona, L.; Gomez, R. L.; Sánchez, A.; Babot, D.; Estany, J.; Mecer, L. A.; Rothschild, M. and Perez, E. M.: Estrogen receptor polymorphism in Landrace pigs and its association with litter size performance. Livestock Production Science 82:53-59. (2003).
46. PigChamp, Inc. PigCHAMP Breeding Herd Summary in México. College of Veterinary Medicine, University of Minnesota. (2000).
47. Plastow, G.; Siggins, K.; Bagga, M.; Brugmans, B.; Heuven, H. and Peleman, J.: Utilization of AFLP for genetic distance analysis in pigs. Archivos de Zootecnia. 52:157-164. (2003).

48. Ramos, A.M.; Mestre, R.; Gouveia, S.; Evans, G.; Zhang, Y.; Cardoso, A.; Rothschild, M. F.; Plastow, G. and Rangel, F.: Use of type I DNA markers for initial genetic characterization of two Portuguese swine breeds. *Archivos de Zootecnia*. 52:255-264. (2003).
49. Rosas, G. M. y Ávila, R. A. J.: *Mejoramiento animal, Genética, Cerdos*. 1ª. Ed. Editorial UNAM. México. (1999).
50. Rothschild, M.F. and Plastow, G.S.: Advances in pig genomics and industry applications. *Ag. Biotechnology*. Net 1: February, ABN 007. (1999).
51. Rothschild, M.F.; Jacobson, C.; Vaske, D.; Tuggle, C.; Wang, L.; Shorts, T.; Eckardt, G.; Sasaki, S.; Vincent, A.; McLaren, D.; Southwood, O.I.; Van Der Steen, H.; Mileham, A. and Plastow, G.: The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. *Genetics*. 93:201-205. (1996).
52. Rothschild, M.F.; Larson, R.G.; Jacobson, C.; and Pearson, P.: PvuII polymorphisms at the porcine oestrogen receptor locus (ESR). *Animal Genetics*. 22:448. Iowa, USA. (1991).
53. Rothschild, M.F.; Messer L.; Day, A.; Wales, R.; Short, T.; Southwood, O. and Plastow, G.: Investigation of the retinol-binding protein 4 (RBP4) gene as a candidate gene for increased litter size in pigs. *Mammalian Genome*. 11:75-77. (2000).
54. Rothschild, M.F.: Approaches and challenges in measuring genetic diversity in pigs. Department of Animal Science. 2255 kildee Hall. Iowa State University. Ames, Iowa 50011. USA. *Archivos de Zootecnia*. 52:129-135. (2003a).

55. Rothschild, M.F.: Use of genetic markers for genetic improvement and selection for disease resistance. IV jornada internacional de producción porcina. Universidad Autónoma de México. México. (2003b).
56. Saitou, N. and Nei, M.: The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic tree. *Mol. Biol. Evol.* 4:406-425. (1987).
57. Sambrook, J.; Fritsch, E.F. and Maniatis, T.: *Molecular cloning. A laboratory manual*. Third ed. Cold spring Harbor NY: Cold Spring Harbor Press. (1994).
58. Sánchez, M.V.: Identificación del polimorfismo de fragmentos largos amplificados (AFLPs) asociados a la conformación de caballos warmblood militares. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. México. (2003).
59. Scaglia, H.; Colombani, M. y Zylbersztein, C.: Prolactina: Aspectos bioquímicos y moleculares. Instituto de análisis bioquímicos de endocrinología (IABE). Vol. 39 No.1. La Plata. Buenos Aires. (2002)
60. Schwerin, M.; Brockmann, G.; Valselew, J.; and Seyfert, H. M.: Perspectives of molecular genome analysis in livestock improvement. *Archiv fur Tierzucht-Achives of Animal Breeding Dummerstorf.* 38:21-31. (1995).
61. Sellwood, R.; Gibbons, R.A.; Jones, G.W. and Rutter, J.M.: Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to pig intestinal brush borders: The existence of two phenotypes. *Journal of Medical Microbiology.* 8:405-511. (1975).
62. Short, T.H.; Rothschild, M.F.; Southwood, O.I.; McLaren, D.G.; de Vries, A.; Van der Steen, H.; Eckardt, G.R.; Tuggle, C.K.; Helm, J.; Vaske, D.A.;

- Mileham, A.J. and Plastow, G.S.: Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines. *J. Anim. Sci.* 75:3138-3142. (1997).
63. Silió, L.; Óvilo, C.; Castellanos, C.; Barragán, C.; Rodríguez, C. y Toro, M.A.: Marcadores genéticos. I Jornada sobre el cerdo ibérico y sus productos. Dpto. mejora genética y biotecnología, INIA, Madrid. (2000).
64. Smidt, D. y Ellendorff F.: Endocrinología y fisiología de la reproducción de los animales zootécnicos. Ed. Acribia, Zaragoza, España. (1972).
65. Soberon, M.F.X.: La ingeniería genética y la nueva biotecnología. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. (2000).
66. Sun, H. S.; Wang, L.; Rothschild, M.F. and Tuggle, C.K.: Mapping of the natural resistance-associated macrophage protein 1 (NRAMP1) gene to pig chromosome 15. *International society for Animal Genetics. Animal Genetics.* 29, 138-140. (1998).
67. Trujillo, O.M.E.; Haro, T.M.; Ruiz, S.A.L.; Mendoza, G.R.; Carrera, R.E.; Ramírez, H.G.; Morales, L.J.; Zimmerman, J.; Cervantes, M.; Prada-Roa, P. y Águila R.R.: Sistema de producción animal 1, cerdos. 1ra. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México. México. (1998).
68. Trujillo, O.M.E.; Martínez, G.R.G. y Herradora, L.M.A.: La pía reproductora. 1ª. Edición. Ed. Mundi-Prensa México, S. A. de C. V. México, D. F. (2002).
69. Tuggle, C.K.; Schmitz, C.B. and Gingerich-Feil, D.: Rapid Communication: cloning of pig full-length natural resistance associated macrophage protein (NRAMP1) cDNA. *J. Animal Science.* 75:277. (1997).

70. Valadez, M.E. y Günter, K.: Huellas de ADN en genomas de plantas. Editorial Mundi-Prensa. Universidad Autónoma de Chapingo. México, D. F. (2000).
71. Vincent, A.L.; Evan, G.; Short, T.M.; Southwood, O.I.; Plastow, G.S.; Tuggle, C.K. and Rothschild, M.F.: The prolactina receptor gene is associated with increased litter size in pigs. 6th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod. Armidale, NSW. Australia. 27:15-18. (1998).
72. Vincent, A.L.; Wang, L. and Rothschild, M. F.: Rapid Communication: A Restriction Fragment Length Polymorphism in the Porcine Leptin Receptor (LEPR) Gene. Department of Animal Science. Iowa State University. Ames 50011. (1997).
73. Vögeli, P.; Bertschinger, H.U.; Stamm, M.; Stricker, C.; Hagger, C.; Fries, R.; Rapacz, J. and Stranzinger, G.: Genes specifying receptors for F18 fimbriated *Escherichia coli*, causing oedema disease and postweaning diarrhoea in pigs, map to chromosome 6. *Animal Genetics*. 27:321-328. (1996).
74. Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijans, M.; Hornes, M.; Frijters, A.; Pot, J.; Peleman, J.; Kuiper, M. and Zabeau, M.: AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*. 23(21):4407-4414. (1995).
75. Yan, X.M.; Ren, J.; Guo, Y.M.; Dings, N.S.; Chen, K.F.; Gao, J.; Ai, H.S.; Chen, C.Y.; Ma, J.W. and Huang, L.S.: Research on the genetic variations of $\alpha 1$ -fucosyltransferase (FUT1) gene in 26 pig breeds. *Yi Chuan Xue Bao*. 30(9):830-834. (2003).