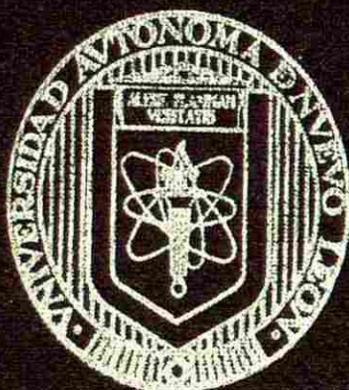


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**ANALISIS DE ASOCIACION DE LOS GENES RECEPTOR DE
RIANODINA (RYR-1) E INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-2 (IGF-2)
CON CARACTERES PRODUCTIVOS EN UNA POBLACION PORCINA
DE TIPO COMERCIAL EN EL ESTADO DE NUEVO LEON, MEXICO.**

Por

RUBEN MALDONADO MENA

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRIA EN CIENCIAS VETERINARIAS**

AGOSTO, 2006

TM

SF396

5

M36

2006

e.1



UANL

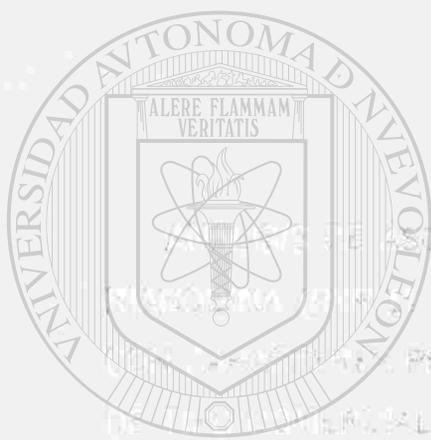
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



ASOCIACIÓN DE LOS JENES RECEPTOR DE
TRANSFORMACIÓN DE E INSLININE QUANTITATIVO (ISQZ)
PRODUCTIVOS EN UNA CORRELACIÓN POSITIVA
DE LO COMERCIAL EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN, MÉXICO

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

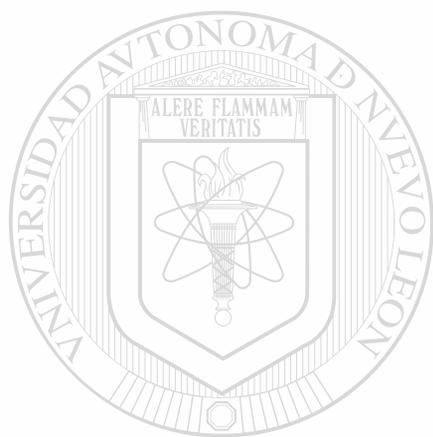
®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RUBÉN MALDONADO MENA

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRIA EN CIENCIAS VETERINARIAS

AGOSTO, 2006



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE LOS GENES RECEPTOR DE RIANODINA
(RZR-1) E *INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-2* (IGF-2) CON CARACTERES
PRODUCTIVOS EN UNA POBLACIÓN PORCINA DE TIPO COMERCIAL
EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN, MÉXICO.**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Por

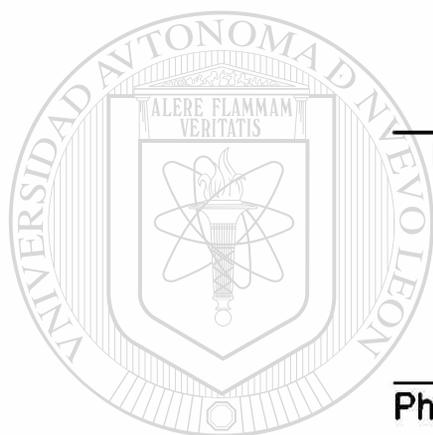
RUBÉN MALDONADO MENA

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRIA EN CIENCIAS VETERINARIAS**

Agosto 2006

**ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE LOS GENES RECEPTOR DE RIANODINA
(RYR-1) E INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-2 (IGF-2) CON CARACTERES
PRODUCTIVOS EN UNA POBLACIÓN PORCINA DE TIPO COMERCIAL
EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN, MÉXICO.**

APROBACIÓN DE LA TESIS



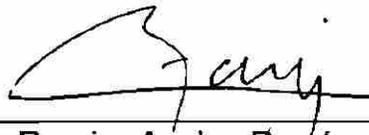

Dr. Guillermo Dávalos Aranda
Asesor de la tesis


Ph. D. Víctor Manuel Riojas Valdés
Co-asesor de la tesis

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS


DR. Juan José Zarate Ramos.
Co-asesor de la tesis


Dr. Ramiro Avalos Ramirez
Subdirector de Postgrado e Investigación

AGRADECIMIENTOS

Gracias doy al Ser Supremo por permitir asomarme al mundo de la ciencia.

A la Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria (DGETA) que tan atinadamente dirige el Ing. Ernesto Guajardo Maldonado. Gracias por la oportunidad para superarme profesionalmente.

Al Lic. Víctor Abel Longoria Alanis, Coordinador de enlace de la DGETA. en el Estado de Nuevo León. Gracias Víctor por apoyarme sin reservas.

Al Ing. Evaristo Quintanilla Martínez, Director del C. B. T. a. # 74. Gracias por respaldarme en todo momento.

Al Ing. José Antonio Reyes Rodríguez, Subdirector Técnico del C. B. T. a. # 74, Gracias por tu apoyo.

Al Dr. Guillermo Dávalos Aranda mi asesor principal, maestro y amigo, gracias por sus enseñanzas y consejos, así como por todo el apoyo que me ha otorgado para la culminación de la presente investigación. Gracias por la confianza Doctor.

Al Ph. D. Víctor Manuel Riojas Valdes, mi co-asesor de tesis, gracias mi Doc por todos tus consejos, asesorías y enseñanzas, gracias por todo el apoyo que me has brindado.

Al Dr. Juan José Zarate Ramos, co-asesor de la tesis, gracias por tu apoyo y consejos.

A la MVZ. MC. Alicia Marroquín Cardona y a la MVZ. Priscila Carrillo Treviño, [®] compañera de investigación, mil gracias por su apoyo.

Al MVZ. MC. Francisco Javier Picon Rubio por su asesoramiento al realizar el análisis de varianza.

A todos mis maestros de la maestría, gracias por sus enseñanzas, gracias por su ejemplo, me esforzaré para nunca defraudarlos.

Al personal administrativo de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia del cual solo he recibido atenciones.

Al MVZ. Ernesto Sosa Sánchez, compañero de trabajo y amigo, testigo de todos los esfuerzos realizados, gracias por tus consejos, gracias por tu tolerancia.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, gracias por recibirme y permitirme formar parte de ella.

DEDICATORIA

**A TODA TEMPESTAD SIGUE LA CALMA
Y DESPUÉS DE ÉSTA EL RECuento DE LOS DAÑOS.
DESEO DE TODO CORAZÓN QUE A MI TEMPESTAD
LE SIGAN MUCHOS, MUCHOS, GRATOS AÑOS.**

A mi esposa Mercedes Larrañaga Treviño

Gracias mi amor por apoyarme en todo momento

A mi hijo-nieto, Gibrán Jamir, mi motivación

Dios siempre nos da una segunda oportunidad hay que aprovecharla.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Población, producción y consumo porcino.....	3
1.1.1. Inventario ganadero porcino.....	3
1.1.2. Producción de carne porcina.....	5
1.1.3. Consumo de carne porcina.....	9
1.1.4. Sistemas de producción en México.....	10
1.2. Generalidades del cerdo.....	11
1.2.1. Clasificación taxonómica.....	11
1.2.2. Características biológicas.....	13
1.2.3. El cerdo y su carne.....	14
1.3. Genética Molecular.....	19
1.3.1. Inicios de la genética molecular.....	19
1.3.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	21
1.3.3. Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción.....	22
1.3.4. Técnica <i>Sanger</i> de secuenciación del ADN.....	22
1.4. Características de los genes RYR-1 e IGF-2.....	23
1.4.1. Gen RYR-1 o gen Halotano.....	23
1.4.2. Gen IGF-2.....	28
1.5. Hipótesis.....	32
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
2.1. Obtención de las muestras sanguíneas.....	33
2.2. Caracteres fenotípicos valorados.....	35
2.3. Extracción del ADN.....	36
2.4. Verificación de la presencia de ADN.....	38
2.5. Genotipado de RYR-1.....	39
2.5.1. Amplificación de RYR-1.....	39
2.5.2. Digestión del fragmento de ADN amplificado de RYR-1.....	41
2.6. Genotipado de IGF-2.....	44

2.6.1. Amplificación de IGF-2.	44
3. RESULTADOS.	47
3.1. Frecuencia genotípica y alélica de los genes RYR-1 e IGF-2. ...	48
3.2. Relación los genotipos RYR-1 con los caracteres productivos. . .	52
3.3. Relación de los genotipos IGF-2 con los caracteres productivos. .53	
4. DISCUSIÓN.	57
4.1. Presencia de la mutación en el gen RYR-1.	58
4.2. Relación de los genotipos del gen RYR-1 con los caracteres productivos.	59
4.3. Presentación de los haplotipos del gen IGF-2.	60
5. CONCLUSIONES.	62
REFERENCIAS.	64
ANEXO.	76

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Evolución del inventario porcino mundial del 2000 al 2005.	3
2. Principales países productores de cerdo (2001-2005).	4
3. Inventario porcino en México (1980-2002).	4
4. Producción de carne de cerdo a nivel mundial (2000-2004).	6
5. Principales países productores de carne de cerdo.	6
6. Principales estados productores de cerdo en México (2000-2002).	7
7. Producción pecuaria en México 2000-2005.	8
8. Participación de los sistemas de producción en México (1980-1989). ...	10
9. Clasificación taxonómica del cerdo.	12
10. Componentes nutricionales de la carne de cerdo.	18
11. Población original y definitiva.	47
12. Frecuencia genotípica RYR-1.	48
13. Frecuencia alélica RYR-1.	49
14. Frecuencia genotípica para IGF-2.	50
15. Frecuencia alélica para IGF-2.	51
16. Pesos promedio por etapa para RYR-1.	52
17. Pesos promedio por etapa para IGF-2.	54
18. Promedios generales.	55
19. Promedios, moda, máximo, mínimo y desviación estándar.	55
20. Resultado del análisis de varianza.	56

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Vena cava craneal.	14
2. Carne PSE y carne normal.	26
3. Extracción de sangre de la vena cava craneal.	34
4. Extracción de sangre de la vena auricular caudal.	34
5. Tubos al vacío con EDTA para la recolección de sangre.	35
6. Visualización de las hebras de ADN.	38
7. Verificación de la presencia de DNA en gel de agarosa al 0.8%.	39
8. Ciclos de la PCR para amplificar fragmento de <i>RYS-1</i>	40
9. Termociclador PTC-100 (MJ Research Inc).	40
10. Gel de verificación de la amplificación del fragmento de <i>RYS-1</i>	41
11. Sitios de restricción para el gen <i>RYS-1</i>	42
12. Genotipado del gen <i>RYS-1</i> en gel de agarosa.	43
13. Gel de agarosa; Heterocigoto (4 fragmentos), homocigoto (2 fragmentos).	43
14. Gel de agarosa; Homocigoto recesivo (nn).	43
15. Ciclos de la PCR para <i>IGF-2</i>	45
16. Verificación de la amplificación de <i>IGF-2</i>	46
17. Gráfica de la frecuencia genotípica de <i>RYS-1</i>	49
18. Gráfica de la frecuencia alélica de <i>RYS-1</i>	49
19. Gráfica de la frecuencia genotípica de <i>IGF-2</i>	50
20. Gráfica de la frecuencia alélica de <i>IGF-2</i>	51

NOMENCLATURA

A	Adenina
Å	Amstron
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ATP	Trifosfato de Adenosina
BTF	Espesor de grasa dorsal
C	Citosina
Ca ²⁺	Calcio
CEA	Centro de Estadística Agropecuaria
CNA	Consumo Nacional Aparente
CRA	Capacidad de retención del agua
° C	Grados centígrados
ddNTP	didesoxinucleótido
dNTP's	Deoxinucleótidos trifosfato
EDTA	Ácido Etilen-Diamino-Tetracético
EUA	Estados Unidos de América
F ₁	Primera generación filial
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FIRA	Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura

g	gramo
G	Guanina
Hal	Halotano
HM	Hipertermia Maligna
hrs	Horas
IGF-2	Factor de crecimiento ligado a insulina
IMF	Grasa Intramuscular
K⁺	Potasio

Kcal	Kilocaloría
Kg	Kilogramo
mg	miligramo
MgCl₂	Cloruro de Magnesio
min	Minuto
mm	milímetro

mM	Milimolar
-----------	------------------

MN	Moneda Nacional
-----------	------------------------

P₁	Generación paterna
----------------------	---------------------------

pb	Pares de bases
-----------	-----------------------

PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
------------	--

pH	Logaritmo inverso de la concentración de iones hidrógeno
-----------	---

PSE	Pálida, Suave y Exudativa
------------	----------------------------------

PSS	Síndrome de estrés porcino
------------	-----------------------------------

QTL	Loci de caracteres cuantitativos
------------	---

QTN	Nucleótido de caracteres cuantitativos
RFLP	Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción
RN	Rendimiento Napole
RNA _t	Ácido Ribonucleico de transferencia
rpm	Revoluciones por minuto
RYR-1	Receptor de la rianodina
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
seg	Segundo
SIAP	Sistema de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera
SSC2p	Cromosoma 2p de Sus Scrofa
T	Timina
<i>Taq</i>	<i>Termophilus aquaticus</i>
TLCAN	Tratado de Libre Comercio de América del Norte
U	Unidades
UP	Agua ultra pura
URSS	Unión de Republicas Soviéticas Socialistas
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
VF	Volumen final
\$	Pesos
%	Porcentaje
μl	microlitro
μM	Micromolar

RESUMEN

Rubén Maldonado Mena

Fecha de Graduación

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Titulo del estudio:

ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE LOS GENES, RECEPTOR DE RIANODINA (*RYR-1*) E *INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-2 (IGF-2)* CON CARACTERES PRODUCTIVOS EN UNA POBLACIÓN PORCINA TIPO COMERCIAL EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN, MÉXICO.

Número de páginas: 77

Candidato para el grado de
Maestría en Ciencias Veterinarias

Área de estudio: Biotecnología Animal

El estudio se desarrollo en la Unidad de Genética molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León. El objetivo del presente trabajo fue determinar si existe asociación de los polimorfismos de los genes *RYR-1* e *IGF-2* con los caracteres productivos y de grasa dorsal de la canal, mediante el análisis de segregación existente de alelos de padres a hijos en una población porcina tipo comercial del estado de Nuevo León, México. Se genotiparon P_1 ($n=30$) y F_1 ($n=190$). Se recabaron los siguientes datos fenotípicos: peso de la camada al nacer, sexo de los lechones, peso a los 24, 65, 118 y 169 días de edad; peso de la canal caliente, espesor de la grasa dorsal (en mm) y % de rendimiento de la canal. La extracción del ADN se realizó con la técnica de Fenol-Cloroformo, utilizando sangre con EDTA. La amplificación de *RYR-1* se realizó según el protocolo descrito por Sánchez y col. (1993), amplificando un fragmento de 659 pb del exon 17 del Gen *RYR-1* localizado en SSC 6, lugar donde se localiza la mutación puntual en el nucleótido 1834 (transición C/T) causante de las carnes PSE (*Pale, Soft and Exudative*). Al ser digerido este fragmento con la enzima de restricción BslKA I se producen los siguientes fragmentos: (524 pb y 135 pb) para el animal libre de la mutación (NN); (524 pb, 358 pb, 166 pb y 135 pb) para el animal portador (Nn) y (358 pb, 166 pb y 135 pb) para el afectado (nn). La frecuencia genotípica y alélica para *RYR-1* fueron las siguientes: fenotípica NN 0.75; Nn 0.24; nn 0.01; alelica N 0.87; n 0.13. Los individuos heterocigotos para *RYR-1* (Nn) tuvieron el mejor peso promedio al momento del destete (6.400 kg.) mostrando ventaja también al momento de finalizar la engorda (108.349 kg). Sin embargo mostraron el mayor promedio de grasa dorsal (18 mm). Los homocigotos recesivos (nn) registraron el menor nivel de grasa dorsal (15 mm). Todos lo cerdos mostraron un rendimiento similar de la canal.

Las amplificaciones de *IGF-2* se realizaron según lo descrito por Jeon et al. (1999). Los iniciadores de PCR usados fueron: *IGF-2 F*; FAM 5'GTT TCT CCT GTA CCC ACA CGC ATC CC- 3'. *IGF-2 R*; 5'CTA CAT AGC TGG GCT CAG GG- 3'. El extremo 5' del *IGF-2* se marcó con FAM (Carbóxilfluoroscaina) para poder ser detectado por el secuenciador automático de electroforesis capilar. El producto amplificado fue enviado a la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Texas A&M para su resolución en un secuenciador ABI Prism 373 A (Perkin Elmer). Encontramos 6 diferentes tamaños de los alelos; 232, 236, 238, 244, 246 y 248 pb. Encontramos 12 genotipos diferentes; 232/238, 232/244, 232/248, 236/238, 236/248, 238/238, 238/244, 238/246, 238/248, 244/248, 246/248 y 248/248. La mayor frecuencia genotípica fue para el genotipo 238/238 (0.35) seguido por el 238/248 (0.28). La frecuencia alélica fue la siguiente: alelo 238 (0.6), 248 (0.23), 244 (0.07), 232 (0.06), 236 (0.03) y alelo 246 (0.01). Los niveles más bajos de grasa dorsal se registraron en los individuos con los genotipos (*IGF-2*) 236/238, 244/248 y 248/248, este último grupo con un promedio de 13 mm de espesor de grasa dorsal a nivel de la 10ª y 11ª costilla. Todos los genotipos de *IGF-2* mostraron un comportamiento similar en cuanto al rendimiento de la canal

Firma del Asesor:



1. INTRODUCCIÓN

Actualmente el consumidor pone especial interés en la cantidad y en la calidad de las grasas que los alimentos poseen. Sin embargo es notoria, aun, la desinformación generalizada sobre las cualidades de la carne de cerdo y su grasa, incluso hay quienes la involucran directamente con ciertos padecimientos cardiovasculares y algunas parasitosis sin considerar la implicación de otras posibles causas. Al parecer quedó bien grabado en la memoria colectiva la imagen del cerdo en el chiquero y consumiendo desperdicios malolientes. Al correr el tiempo el hombre se ha dado cuenta que estas prácticas no dan los resultados anhelados. Por otro lado, la reserva y las estrictas medidas sanitarias con que se manejan las explotaciones porcinas tecnificadas no le permiten a la población en general tener una perspectiva de los considerables esfuerzos y avances logrados en la explotación de los cerdos.

Es importante hacer notar que la industria porcícola se ha transformado radicalmente, utilizando animales mejorados genéticamente, modificando los sistemas de alimentación, así como las prácticas sanitarias y de crianza de los cerdos, todo esto, como respuesta a las nuevas preferencias y exigencias de los consumidores. Es por eso que hoy en día el cerdo es uno de los animales de abasto que más transformación ha tenido.

Con la aplicación de los nuevos conocimientos en Genética se ha logrado un cambio conformacional del cerdo, pasando este, de ser un cerdo de aspecto gordo, a ser un cerdo de aspecto atlético. Esta nueva conformación del cerdo ha traído consigo un aumento en el porcentaje de carne magra en el esqueleto y consecuentemente una disminución de la grasa y con ello una baja en cuanto a la calidad organoléptica de la carne, ya que la grasa influye de manera importante en el sabor, la ternura y la jugosidad de la misma.

Las nuevas técnicas de biología molecular han permitido la identificación de genes involucrados, tanto en la presentación de enfermedades hereditarias, como en el desarrollo muscular y magro en el cerdo; así como también el diagnóstico de enfermedades infecciosas.

La presente investigación pretende aportar conocimientos que permitan lograr un mejor entendimiento de los efectos de los genes; receptor de la rianodina, *RYR-1* (*Skeletal muscle Ryanodine Receptor-1*) y el factor de crecimiento ligado a insulina, *IGF-2* (*Insulin-like Growth Factor-2*) con caracteres productivos de los cerdos. El primero de los genes es causante del Síndrome de Estrés Porcino (*PSS*, del inglés, *Porcine Stress Syndrome*,) o Hipertermia Maligna (*MH*, del inglés, *Malignant hyperthermia*,) y está directamente involucrado en la presentación de carne de baja calidad denominada Pálida Suave y exudativa o *PSE* (del inglés, *Pale, soft and exudative*), el segundo relacionado con el crecimiento embrionario y neonatal, así como con la impronta genómica (*imprinting*) en donde se observan dos diferentes fenotipos dependiendo del origen paterno o materno del cromosoma que lleva el gen.

Todo el trabajo realizado no tendría justificación si el propósito final no fuera tratar de incrementar las utilidades del productor, favoreciendo la óptima utilización de sus inventarios ganaderos y de sus sistemas de explotación.

1.1. Población, producción y consumo porcino

1. 1.1. Inventario ganadero porcino

El inventario ganadero porcino a nivel mundial en el año 2000 era de más de 896 millones de cabezas (FAO, 2005) ubicándose en Asia el 59%, en Europa el 22%, el 8% en Norteamérica, el 8% en América latina y el Caribe, en África el 2% y en Oceanía el 1% (Ormel, 2002).

En América Latina y El Caribe, en el año 2000, Brasil tenía 27.3 millones de cabezas lo que representaba un 37% de la población total de la región, los Países Andinos contaban con 15.6 millones representando el 21%, México con 13.7 millones significando el 19%, el Cono Sur con 8.7% aportando el 12%, América Central con 6.9 millones aportando el 10% y el Caribe con 0.6 millones de cabezas significando el 1% del total del ganado de la región (Ormel, 2002).

La tabla 1 muestra la evolución del inventario porcino mundial del 2000-2005.

Tabla 1. Evolución del inventario porcino mundial del 2000 al 2005 (FAO, 2005).

Año	Cantidad
2000	896,367,152
2001	913,098,559
2002	928,798,862
2003	941,595,735
2004	945,094,992
2005	960,410,167

La tabla 2 muestra los principales países productores de cerdo (2001-2005).

Tabla 2. Principales países productores de cerdo (2001-2005) (FAO 2005).

País	Año				
	2001	2002	2003	2004	2005
China	454,409,962	464,694,621	469,808,949	472,895,791	488,809,975
EUA	59,138,000	59,721,600	59,554,200	60,443,700	60,644,500
Ex URSS	30,626,421	31,899,719	34,248,110	31,029,138	27,727,117
Brasil	32,605,112	32,013,200	32,304,900	33,000,000	33,000,000
Alemania	25,766,824	25,957,800	26,251,490	26,495,000	26,235,600

La tabla 3 presenta el inventario porcino del año 1980 a 1999 en México.

Tabla 3. Inventario porcino en México (1980-1999) Adaptado de FAO, 2005.

Año	Miles de cabezas
1980	16,890
1981	17,562
1982	18,096
1983	19,364
1984	19,393
1985	17,233
1986	18,397
1987	18,722
1988	15,884
1989	16,157
1990	15,203
1991	15,786
1992	16,502
1993	16,832
1994	16,200
1995	15,923
1996	15,405
1997	15,735
1998	14,972
1999	15,748

En dicha tabla (3) podemos observar que en 1984 se alcanzó la mayor cifra inventariada de cabezas porcinas y que en el año de 1998 se observa la cifra más baja registrada. Entre este periodo de 1984 a 1998 se observan altibajos en las cantidades inventariadas y a partir del último año se observa que el sector se comienza a recuperar. Del año 2000 al 2005 México ha transitado del octavo al décimo lugar como productor porcino.

En la participación por estado, del año 1980 al 2002, Jalisco disminuyó dos puntos porcentuales (del 22 al 20%) su participación en la producción porcina, pero Michoacán decreció aún más, del 14% que aportaba, bajó al 5%. En marcado contraste observamos que Yucatán que aportaba el 1% pasó al 8% de la producción nacional. Asimismo Sonora pasó del 10 al 16%, Guanajuato del 6 al 10%, Puebla del 4 al 8% y Veracruz del 5 al 7% de la producción porcina (Sagamaga et al. 2003). El estado de Nuevo León ocupó el lugar número 13 a nivel nacional en producción porcina, con una población de casi 270,000 cerdos (CEA/SAGAR, 2000), distribuidos en 163 granjas ubicadas en los municipios de Cadereyta, Zuazua, Marín, Los Ramones, Villa de García, Santa Catarina, Apodaca, Sabinas Hidalgo, Salinas Victoria, Allende y Villa Aldama.

1.1.2. Producción de carne porcina

En el año 2000 a nivel mundial la producción de carne de porcino alcanzó un nivel de más de 90 millones de toneladas. Asia encabezó la producción de carne de cerdo con una cantidad de 50,348 millones de toneladas, Europa 24,960 millones, América 14,546 millones, África 582 millones y Oceanía 473

millones de toneladas (Ormel, 2002). En el Anexo 1 se muestran los países pertenecientes a cada región.

A nivel país, en ese mismo año (2000) China encabezó la producción mundial con 43.05 millones de toneladas, seguida por U. S. A. con 8.53, Alemania con 3.85, y España con 2.96 millones de toneladas (FAO/SMIA, 2000). La tabla 4 muestra el comportamiento de la producción de carne de cerdo a nivel mundial durante los años 2000 al 2004.

Tabla 4. Producción de carne de cerdo a nivel mundial (2000-2004) (FAO 2005)



Año	Cantidad Millones de toneladas
2000	90
2001	92.6
2002	95.3
2003	98.4
2004	100.4

En el año 2001, la producción mundial de carne de cerdo fue de 92.6 millones de toneladas (39% de la producción de carne mundial). El total de la carne producida a nivel mundial fue 237.1 millones de toneladas (FAO/SMIA, 2002). En la tabla 5 se observan los principales países productores de carne de cerdo y las cantidades producidas durante los años 2001 al 2004 (FAO, 2005).

Tabla 5. Principales países productores de carne de cerdo (toneladas)

País	Año			
	2001	2002	2003	2004
China	42,982,251	44,373,776	46,233,462	48,117,789
EUA	8,691,000	8,929,000	9,056,000	9,311,800
Alemania	4,074,324	4,110,115	4,239,310	4,323,400
Brasil	2,637,000	2,798,000	3,059,000	3,110,000
Francia	2,315,200	2,346,000	2,339,000	2,292,572

En México en el año 2001 la producción de carne de porcino fue de 1,143,561 toneladas, producción encabezada por el estado de Jalisco con una producción de 209,443 toneladas, seguido por Sonora con una producción de 179,444 toneladas, Guanajuato con 100,740 toneladas, Yucatán con 87,188 toneladas y Puebla con 82,177 toneladas (SAGARPA, 2004).

El estado de Nuevo León produjo 17,794 toneladas, ubicándose como décimo tercer lugar en la producción nacional. En el mismo año México aportaba el 1% de la producción mundial y ocupaba el 18° lugar (SIAP/ SAGARPA, 2004). En la tabla 6 se muestran los principales estados productores de cerdo en México del 2000 al 2002 (SAGARPA, 2003).

Tabla 6. Principales estados productores de cerdo en México (2000-2002)
(Toneladas)

Estado	2000	2001	2002
Jalisco	193,362	209,443	214,889
Sonora	174,712	179,444	194,528
Guanajuato	102,162	100,740	96,574
Yucatán	83,052	87,188	87,003
Puebla	80,991	82,177	79,001
Veracruz	73,723	73,687	73,687
Michoacán	53,355	54,204	52,830

Para el año 2002 la producción de carne porcina nacional alcanzó la cantidad de 1,070 200 toneladas (SAGARPA, 2004).

El año 2003 fue trascendente para el sector agropecuario en México ya que en el marco del Tratado de Libre Comercio de América del Norte (TLCAN) la mayoría de los productos, incluyendo los porcinos, pueden ingresar al país sin pagar aranceles (SAGARPA 2002; Sagarnaga et al. 2003). La producción

decreció en 3.1%, a una cantidad de 1,036,700 toneladas. Este deterioro de la producción porcina fue causado por las importaciones de carne a precios discriminados (dumping), haciendo menos rentable e incosteable dicha producción, con lo que se produjo el cierre de granjas medianas y pequeñas (SAGARPA, 2004). En ese año 2003 las importaciones de pierna de cerdo puestas en la frontera llegaron a cotizarse hasta en \$11.00 pesos MN. por kg, precio muy similar al costo del cerdo en pie (Sagamara et al. 2003). En este mismo año los estados más productores en México fueron encabezados por Sonora con 201,361 toneladas, seguido por Jalisco con 199,734 toneladas, Guanajuato 90,616 toneladas, Yucatán 81,149 toneladas, Puebla 72,968 toneladas, Veracruz 67,428 toneladas y Michoacán con 47,171 toneladas. El estado de Nuevo León produjo 17,961 toneladas ocupando el 13° lugar nacional (SAGARPA, 2004).

En el 2004, México, recuperó su crecimiento, alcanzando 1,058,205 toneladas (FAO, 2005). Es importante señalar que los datos de FAO y de SAGARPA no coinciden exactamente, como se muestra en la tabla 7 que proviene de SAGARPA.

Tabla 7. Producción porcina en México 2000 – 2005

Miles de toneladas						
Año	2000	2001	2002	2003	2004	2005*
Porcino	1,030.0	1,057.8	1,070.2	1,035.3	1,064.4	1,087.8

Fuente: SAGARPA 2006. *preliminares

1.1.3. Consumo de carne porcina

Según datos proporcionados por FAO el consumo percapita a nivel mundial para el año de 1990 era de 12.8 kg. y para el año 2000 fue de 14.84 kg. (FAO, 2004). El consumo per capita mundial de carne de cerdo en el año 2003 se ubicó en los 15.7 kg, y en el 2004, en 15.9 kg (FAO, 2004). En la estimación que presenta SAGARPA (2002), sobre el consumo nacional aparente (CNA) de carne de porcino y productos porcícolas, en México, podemos observar que éste se incrementó, de 936,514.3 toneladas en 1990, a 1,503,384.7 toneladas en 2001. El Consumo Nacional Aparente es una forma de medir la cantidad de producto de que dispone un país para su consumo. Por otro lado la disponibilidad per capita de carne de cerdo en México también aumentó, de 11.54 kg/habitante/año en 1990, a 15.1 kg/habitante/año en 2001 (SAGARPA, 2002). El consumo per capita durante el año 2001 fue de 14.1 Kg., incrementándose un 2.9% con respecto al año 2000. Es importante señalar que en el año de 1980 el consumo *per capita* en México era de 19.2 Kg., y que en 1983, el país ocupaba el sexto lugar en la producción mundial, con una producción de 1.5 millones de toneladas.

Al considerar el consumo mundial es importante señalar que parte de la población mundial excluye de su dieta la carne porcina especialmente los musulmanes en el Cercano Oriente, Asia y África sub sahariana (Delgado, et al.1999).

1.1.4. Sistemas de producción en México

En la década de 1980 el sistema tecnificado del país poseía el 30% del inventario porcino y aportaba el 40% de la producción nacional. Las granjas semi tecnificadas tenían el 30% del inventario y aportaban el 30% de la producción y las explotaciones de traspatio representaban el 40 % del inventario porcino y aportaban el 30% de la producción nacional (Ver tabla 8) (FIRA, 1997).

Tabla 8. Participación de los sistemas de producción en México (1980-1989)



Sistema	% en el inventario	% en la producción
Tecnificado	30%	40%
Semi tecnificado	30%	30%
Traspatio	40%	30%

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Para la década de los noventa el sistema tecnificado contaba ya, con instalaciones modernas bien planeadas, y aportaba el 50% de la producción nacional. El sistema semi tecnificado, más expuesto a los cambios económicos y propenso a desestabilizarse aportaba el 30% de la producción. El sistema de traspatio considerado ya, riesgo para la salud pública y para el control de las zoonosis, reduce su participación aportando el 20% de la producción nacional (Desarrollo porcícola, 1998).

En la actualidad los poricultores semi tecnificados se están organizando entre ellos mismos, o bien, se han incorporado mediante contratación a los

grandes consorcios empresariales. Los que no lo han hecho tienden a desaparecer. Este sector redujo su participación nacional a tan sólo el 15%. El sector tecnificado incrementó su participación en la producción nacional a un nivel del 57% (Sagarnaga et al. 2003). Las empresas que han sobrevivido son las que se han integrado verticalmente y han reorientado sus mercados. Esta integración vertical ha venido acompañada de avances tecnológicos, sobretodo en el área de procesamiento, producción de alimentos balanceados y mejoramiento genético (Sagarnaga et al. 2003).

En Nuevo León las granjas tecnificadas utilizan los sistemas de explotación denominados de dos y tres sitios, donde en el sitio uno se encuentra el pie de cría, el área de monta o inseminación, y las áreas de gestación y maternidad. En el sitio dos se lleva a cabo el destete o crianza y la pre engorda. En el sitio tres se verifica la finalización.

En el caso de las explotaciones de dos sitios las áreas correspondientes al sitio uno y dos se ubican en el mismo lugar (sitio uno) realizando la finalización en un sitio diferente (sitio dos).

1.2. Generalidades del cerdo

1.2.1. Clasificación taxonómica

Comúnmente se le da al cerdo doméstico el nombre científico de *Sus scrofa* aunque algunos autores lo llaman *Sus scrofa domesticus* reservando el *Sus scrofa* para el jabalí (Escamilla, 1981).

El cerdo es un animal *mamífero* del orden *artiodáctilo*, familia de los *suidos*, género *Sus*. En la familia de los *Suidae* se encuentra, *Sus scrofa* que presenta subespecies tales como *Sus scrofa cristatus* (cerdo de India y Asia menor), *Sus scrofa vittatus* (cerdo de China e Indonesia) *Sus scrofa ussuricus* (cerdo de Asia del norte y Japón) y *Sus scrofa scrofa* (cerdo europeo). Este último se divide en *Sus scrofa scrofa ferus* (cerdo salvaje) y *Sus scrofa scrofa domesticus* (C. doméstico) (Berruecos, 1972; Concellón, 1978; Nowak, 1991; ITIS/USDA, 2005; Kenyalogy, 2005).

Se estima que existen más de 90 razas reconocidas y unas 200 variedades no reconocidas como razas (infocarne, 2005). La tabla 9 muestra la clasificación taxonómica completa del cerdo.

Tabla 9. Clasificación taxonómica del cerdo

Categoría taxonómica	Clasificación
Reino	<i>Metazoa</i>
Filum	<i>Cordados</i>
Rama	<i>Vertebrados</i>
Clase	<i>Mamíferos</i>
Infraclasse	<i>Euteria</i>
Orden	<i>Artiodáctila</i>
Familia	<i>Suidae</i>
Subfamilia	<i>Suinae</i>
Género	<i>Sus</i>
Especie	<i>Sus scrofa</i>
Subespecies	<i>Sus scrofa scrofa domesticus</i> <i>Sus scrofa scrofa ferus</i> <i>S. scrofa ussuricus</i> <i>S. scrofa cristatus</i> <i>S. scrofa vittatus</i>
Nombre común	Cerdo, puerco, cochino, marrano, chancho.

1.2.2. Características biológicas del cerdo

La columna vertebral del cerdo posee 7 vértebras cervicales, de 14 a 15 dorsales, 6 a 7 lumbares, 4 a 5 sacras y de 20 a 23 coccígeas. La caja torácica es larga y posee las correspondientes 14 a 15 pares de costillas (Concellón, 1978; Popesko, 1998; Muños, et al 1998). Su gestación dura de 112 a 115 días, la hembra presenta dos hileras de mamas que pueden ser de un número de 8 hasta 14. La especie porcina se caracteriza por su prolificidad: una sola cerda puede dar 20 lechones al año y finalmente cada uno de estos lechones, adecuadamente alimentados, se pueden sacrificar a los 5 o 6 meses de edad, proporcionando de 70 a 80 kg de carne y grasa. Son omnívoros, como el hombre y necesitan de 3 a 4.5 kg de alimentos para aumentar 1 kg de peso vivo y obtener un rendimiento del 75% (Concellón, 1978).

El lechón al nacer tiene 8 dientes, en la primer dentición (temporal) tienen 32 dientes y en la permanente 44 (Concellón, 1978; Muños et al 1998).

Debido a la dificultad para acceder a la vena yugular externa, la región más apropiada para realizar punciones venosas es la ubicada en la base del cuello, en dirección a la entrada del tórax en donde es posible acceder a la vena cava craneal o a cualquiera de los vasos que afluyen a la misma (Figura 1) (Muños, et al. 1998).

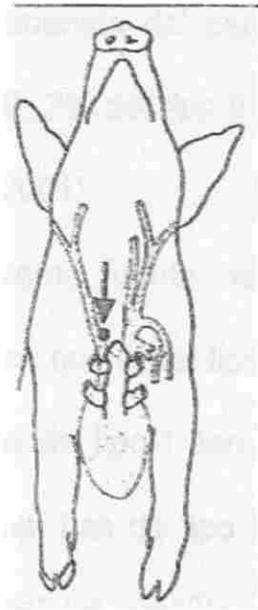


Figura 1. Vena cava craneal (Muños, et al. 1998)

También se utilizar la vena auricular caudal para extracciones sanguíneas, así como para la aplicación endovenosa de fármacos (Muños et al 1998).

El cerdo posee 19 pares de cromosomas en el núcleo de sus células, 18 autosomas y los cromosomas sexuales X y Y (Concellón, 1978; Archibald, et al. 1995; Marklund, et al. 1996; Rohrer, et al. 1996).

1.2.3. El cerdo y su carne

Por lo regular el objetivo de los porcicultores es el de conseguir la máxima cantidad de carne magra, sin embargo el objetivo no debe ser el mínimo de grasa, sino encontrar las combinaciones óptimas de la dieta, la eficiencia del alimento, la tasa de crecimiento y la calidad de la canal (Whittemore, 1978).

El músculo esquelético del cerdo posee fibras musculares de los tipos tipo I (7.7%), II A (2.6%), II B (74.4%) y II* (15.3%) (Gil, et al. 2001). El tipo II* muestra propiedades histoquímicas muy similares al tipo II X previamente

descrito en otros mamíferos además del cerdo (Gil, et al. 2001). Lefaucher (2001) reporta 83% del tipo II B, 7% del tipo II A y 10% del tipo I, para el cerdo Large White (Lefaucher, et al. 2001).

La fibra tipo I emplean como fuente de ATP la fosforilación oxidativa (metabolismo aeróbico) mientras que la del tipo II B utilizan la vía de la glicólisis (metabolismo anaeróbico). Las de tipo I son conocidas como fibras lentas o rojas y son ricas en mioglobina. Las de tipo II B se conocen como rápidas y blancas. Las de tipo II A (oxidativas-glicolíticas) poseen características de los dos tipos anteriores, utilizan metabolismo oxidativo para formar ATP y poseen mioglobina, así como un alto nivel de glucógeno (García, et al. 1995).

El color rosa de la carne de cerdo es debido en parte a la alta proporción de fibras musculares libres de mioglobina (blancas) entrecruzadas con fibras rojas (Charley, 1991). La proporción en que están presentes las fibras varía según el músculo, por ejemplo; el *Longissimus dorsii* del cerdo tiene un contenido de fibras I: IIA: IIB en la siguiente proporción 8:8:84 respectivamente (Barton, 1997). La tendencia actual de producir cerdos magros y musculosos favorece la mayor incidencia de las fibras tipo II B (rápidas y blancas) en detrimento de las fibras rojas, por consecuencia en los grandes músculos como el dorsal largo, bíceps femoral, semimembranoso, semitendinoso y glúteo medio se puede observar la disminución del color rojo (Bonelli y Schifferli, 2001).

Muchos estudios han enfocado sus esfuerzos hacia el estudio de la calidad de la canal y de la carne del cerdo, en estos se incluyen la medición de la grasa dorsal, del área del músculo del lomo, la deposición de grasa, el Ph, la textura, capacidad de retención del agua y otros más (Rothschild, et al. 2003).

Antiguamente, el cerdo era alimentado con los desperdicios de comida, y se le engordaba hasta que tuviera acumulada suficiente grasa, misma que se utilizaba en la preparación de los alimentos. Con la llegada de las grasas y aceites de origen vegetal, este propósito quedó en desuso. En 1978 Concellón señala que en el matadero municipal de Barcelona entre los años 1929 a 1936 las canales de los cerdos sacrificados pesaban de 110 a 120 kg, lo que correspondía a pesos vivos de entre 140 y 170 kg. (Concellón, 1978). Para la década de 1970, las condiciones del mercado exigían que la canal tuviera mayor cantidad de carne magra (Berruecos, 1972; Concellón, 1978).

Al generalizarse el consumo de aceites vegetales el productor se vio obligado a producir un tipo de ganado porcino con un mínimo de tocino y tejido graso y en consecuencia con mayor tejido magro en la canal (Concellón, 1978).

Este rasgo fue considerado prioritario y como resultado se lograron cambios dramáticos en la conformación corporal del cerdo, en detrimento de la calidad de la carne (De Vol, et al. 1988; Cameron, 1990). Los programas de cría porcinos se enfocaron en la velocidad de crecimiento y en producción de carne magra, seleccionando el rasgo de disminución del espesor de grasa dorsal (*BTF, backfat thickness*) que conlleva la reducción del contenido de grasa intramuscular (*IMF, intramuscular fat*) (Grindflek, et al. 2001).

La porción relativa de tejido magro y componentes grasos en el músculo es dependiente de la genética, sexo, y edad, así como del músculo específico evaluado. La composición puede variar de 75% o más tejido magro y arriba de 25% de tejido graso basado en la composición genética del cerdo y de las condiciones medio ambientales en donde el cerdo fue criado (PIC, 2005).

Se pudiera decir que el cerdo es el animal doméstico que más se ha transformado en los últimos años, los avances logrados son de relevancia, sobre todo en los aspectos de crecimiento y eficiencia alimentaria (Tibau y Soler, 1999). Se ha señalado que de 1980 al 2002, el cerdo ha perdido el 31% de su nivel de grasa, así como el 14% de energía (Kcal.) y también ha disminuido el 10% de colesterol (Roppa, 2002).

Los estudios más recientes se han enfocado a la detección de los denominados loci de caracteres cuantitativos QTLs (*quantitative trait loci*) que afectan caracteres tales como; crecimiento, calidad de la canal y de la carne, deposición de grasa (Casas-Carrillo, et al. 1997; Andersson, et al. 1998; Roher, et al. 1998; Pérez-Enciso, et al. 2000; Rattink, et al. 2000; Malek, et al. 2001a; Malek, et al. 2001b; Grindflek, et al. 2001; Dávalos, 2002).

En la actualidad se siguen desarrollando estrategias para la producción de cerdos magros, tratando de maximizar la velocidad y eficiencia de crecimiento del músculo y de optimizar las características del músculo.

La carne de cerdo, aporta de 18 a 20 gramos de proteína por cada 100 g del producto. La mayor parte de la grasa (70%) se encuentra debajo de la piel y solo el 30% de la grasa restante se encuentra entre los músculos y dentro de ellos (Roppa, 2002).

La cantidad de grasa varía del 6.2 al 26.7% según el tipo de tejido. De cada 100 g de grasa de cerdo, los ácidos grasos saturados significan el 39.2 % (palmítico 23.8 g, esteárico 13.5 g) y los insaturados el 56.3%, resultando el ácido Oleico el más abundante (41.2 g) seguido por el linoleico (10.2 g) y el linolénico (1.0 g). La carne magra de cerdo puede contener entre 60 y 80 mg.

de colesterol por 100 g de producto fresco (Charley, 1991). Las vísceras o despojos (hígado, riñones, sesos) aportan entre 300 y 400 mg por 100 g. (consumer, 2003). También aporta minerales, tales como; Calcio de 6-9 mg, Fósforo 175 mg, Hierro de 1.2 - 2.3 mg, Magnesio 21 mg, Potasio 34 mg y Zinc 2.86 mg, entre otros. La carne de cerdo es rica en tiamina (B1), riboflavina (B2) y niacina. Tiene de 8 a 10 veces más tiamina o vitamina B1 que el resto de las carnes (consumer, 2003). La carne magra de cerdo tiene una digestibilidad del 98% aproximadamente (Thomson, 1999). La tabla 10 muestra los diferentes nutrientes de la carne de cerdo (Charley, 1991).

Tabla 10. Componentes nutricionales de la carne de cerdo

Valor nutritivo de la carne de cerdo (jamón o lomo sin grasa) Cada 100 gramos.			
Minerales	mg.	Vitaminas	mg/ µg
Calcio	6	Tiamina (B1)	0.87 mg
Hierro	1.2	Riboflavina (B2)	0.31 mg
Magnesio	21	Niacina (B3)	4.6 mg
Sodio	82	Ácido Fólico	4 µg.
Potasio	34	Cobalamina (B12)	0.73 µg.
Zinc	2.86		
Aminoácidos	mg	Ácidos grasos	
Isoleucina	608	Saturados	2.14 g
Leucina	897	Monoinsaturados (oleico)	2.54 g
Lisina	961	Poliinsaturados (linoleico)	0.54 g
Metionina	321	Macronutrientes	
Treonina	583	Humedad	3.1%
Triptófano	162	Fibra	0%
Valina	616	Energía	140 kcal.
Arginina	756	Proteína total	19.8 g
Histidina	391	Grasa total	6.2 g
		Colesterol	65 mg

1.3. Genética Molecular

1.3.1. Inicios de la Genética Molecular

El año de 1941 marca el inicio de la genética molecular, George Beadle y Edward Tatum realizaron sus trabajos utilizando el hongo *Neurospora crassa* en donde irradiaron esporas con rayos X para causar mutaciones y cultivando las cepas en diferentes tipos de medios; completos y mínimos. Después de probar más de 80,000 esporas les pareció razonable que cada mutación fuera la causa de la pérdida de una actividad enzimática; así, postularon la hipótesis de que la función de un gen es producir una enzima (Klug y Cummings, 1999; Griffiths, et al. 2000).

En 1944, Oswald Avery, Colin McLeod, y Maclyn McCarty, publicaron un artículo en donde informaban que habían obtenido el "principio transformante" en estado puro, con lo que pudieron comprobar que el ácido desoxirribonucleico (ADN) era el que contenía la información genética de las células y por lo tanto era el responsable de la transformación. (Avery, et al. 1944; Gardner, 1991). Sin embargo, el cómo el ADN especificaba la estructuras de las enzimas era desconocido (Klug y Cummings, 1999).

Utilizando el análisis de difracción de rayos X sobre el ADN William Astbury, en 1947 detectó una periodicidad de 3.4 Å, lo que le hizo pensar que las bases estaban apiladas como monedas (Astbury, 1947). Más adelante se publicaron, en 1952, las investigaciones realizadas por Alfred Hershey y Martha Chase en donde se comprobó que el ADN es el material genético (Hershey y Chase, 1952).

Tomando como base los datos de Erwin Chargaff que sugerían que las cantidades de Adenina y Timina (A=T) así como las de Guanina y Citosina (G=C) eran iguales (Chargaff, 1950), y tomando en cuenta los datos de las investigaciones con rayos X, James Watson y Francis Crick en 1953 publicaron un artículo en la revista *Nature* en donde proponen la estructura del ADN la cual está formada por dos cadenas helicoidales enrolladas alrededor de un mismo eje y en donde las bases nitrogenadas de las cadenas opuestas se emparejan sólo de una manera; Adenina con Timina (A-T) y Guanina con Citosina (G-C) (Watson y Crick, 1953a). Poco después Watson y Crick propusieron la hipótesis de la replicación semiconservadora del ADN. (Watson y Crick, 1953b). El modelo propuesto por Watson y Crick ha impulsado el conocimiento de las bases moleculares del código genético, la transcripción, la traducción y la regulación génica (Klug y Cummings, 1999).

En el año 1957 Arthur Kornberg y colaboradores lograron aislar una enzima que era capaz de dirigir la síntesis de ADN, hoy recibe el nombre de ADN polimerasa I; experimentos posteriores confirmaron que la enzima encargada de la duplicación del ADN es la polimerasa III, mientras que las polimerasa I y II sirven para la lectura de prueba y corrección de errores efectuados en la duplicación (Lehninger, et al. 1993; Klug y Cummings, 1999).

En 1971 los investigadores Hamilton Smith, Werner Arber y Daniel Nathans publicaron el artículo en donde mencionan como una enzima bacteriana podía cortar el ADN viral (Watson et al. 1992). La base fundamental de la tecnología del ADN recombinante es precisamente la utilización de las enzimas de restricción o endonucleasas de restricción. En 1972, Jackson D., Paul Berg, y

R. Symons, combinando el ADN del virus SV40 causante de cáncer en el mono, con el virus lambda crearon la primer molécula de ADN recombinante (Jackson et al. 1972). Esta tecnología del ADN recombinante se utiliza para aislar, replicar y analizar los genes y ha revolucionado las investigaciones genéticas.

1.3.2. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Otra de las técnicas que más han favorecido las investigaciones en diferentes campos de la tecnología del ADN es la Reacción en Cadena de la Polimerasa, o PCR (*Polymerase Chain Reaction*) desarrollada por Kary B. Mullis, la cual permite obtener *in vitro* más de un millón de copias de regiones específicas de ADN.

Básicamente se necesitan los siguientes componentes: ADN que se quiere amplificar (ADN blanco); el par de oligonucleótidos sintéticos (iniciadores o cebadores, hacia delante y en reversa) que hibridan con las secuencias flanco del segmento a amplificar; enzima ADN polimerasa termoestable (por ejemplo, *Taq* polimerasa); deoxinucleótidos trifosfato o dNTP's (dATP, dTTP, dCTP y dGTP); cationes divalentes libres ($MgCl_2$); y el amortiguador para PCR (Tris-Cl) (Saiki, et al. 1985; Mullis, et al. 1986; Mullis y Faloona, 1987).

El ciclo se realiza en un termociclador automático y consta de tres pasos; 1) desnaturalización del ADN molde, 2) hibridación de los cebadores (alineamiento) y 3) extensión de la cadena blanco de ADN del segmento flanqueado por los cebadores por acción de la polimerasa. Este ciclo se repite muchas veces, duplicando cada vez, la cantidad de la región de ADN deseada.

Varias disciplinas tales como, biología molecular, genética humana, evolución, así como también la medicina forense se han beneficiado con ella.

1.3.3. Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)

Al ocurrir una variación en la secuencia nucleotídica de un genoma se puede crear o eliminar un sitio de reconocimiento de una enzima de restricción por lo que el patrón de cortes se ve alterado. Estas variaciones en la longitud de los fragmentos se conocen como polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción, o RFLP (*Restriction fragment length polymorphism*). Estos RFLP son marcadores genéticos que se heredan de manera codominante (Klug y Cummings, 1999).

El patrón de bandas en un fragmento amplificado por PCR digerido con una enzima de restricción y separado por electroforesis en gel de agarosa es visualizado mediante la tinción de ADN con bromuro de etidio y bajo luz ultravioleta (Klug y Cummings, 1999).

1.3.4. Técnica Sanger de secuenciación del ADN

La técnica de secuenciación del ADN descubierta por Frederick Sanger y colaboradores se fundamenta en que el didesoxinucleótido análogo (ddNTP) de cada uno de los nucleótidos normales es incorporado por la ADN polimerasa a la cadena de ADN en crecimiento. Cada ddNTP posee un hidrogeno (H) en lugar de un hidróxido (OH) en el carbono 3 de la desoxirribosa lo que evita la adición del siguiente nucleótido en la cadena de ADN que se esta sintetizando lo que termina la amplificación del ADN en este nucleótido (Sanger, et al. 1977).

Para realizar la secuenciación de un fragmento se necesita un par de iniciadores que flanqueen en segmento de ADN a secuenciar, dNTPs, ddNTP marcados con diferentes fluorocromos y una polimerasa. Cuando en la amplificación se une un ddNTP se detiene la amplificación y marca la cadena con un fluorocromo. Así al final de la reacción habrá cadenas de ADN con diferentes tamaños y marcados con uno de los cuatro fluorocromos.

Posteriormente los productos son separados por electroforesis y mediante un lector es secuenciado e identificado cada uno de los fragmentos identificando el nucleótido marcado (Hardin, et al. 1996; Ball, et al. 1998).

De acuerdo al tipo de secuenciador se pueden marcar los iniciadores usados o bien los ddNTPs, la electroforesis puede realizarse en geles de policramida o en capilar de acuerdo al secuenciador utilizado.

La técnica se aplica actualmente con equipos de secuenciación automáticos que también pueden precisar el tamaño de los productos de PCR de cada alelo, con lo cual se determinan los genotipos a nivel molecular (Devlin, 2000).

1.4. Características de los genes *RYR-1* e *IGF-2*

1.4.1. Gen *RYR-1* ó gen Halotano

El gen receptor de la rianodina (*RYR-1*; *Skeletal muscle Ryanodine Receptor-1*) se localiza en el cromosoma 6p11-q21 y su mutación origina un cambio de una pirimidina por otra en el ADN (citosina por timina, C/T) en el nucleótido 1843 del gen *RYR-1*, lo cual elimina un sitio de restricción para la enzima Hin PI y crea uno para la enzima Hgi AI (Fujii et al. 1991; Wendt et al.

2000; MacLennan et al. 1992). Esta sustitución C/T ocasiona el cambio de una arginina por cisteína en la posición 615 del canal de liberación de calcio (Bonelli y Schifferli 2001). El gen es también conocido como gen Halotano por la relación que guarda la exposición de individuos susceptibles a este anestésico y la presentación de la hipotermia maligna (en humanos) y el Síndrome de Estrés Porcino (en cerdos) (Monnier y Lunardi, 2000; MacLennan et al. 1990). De hecho anteriormente se diagnosticaba el síndrome mediante la prueba del halotano (Christian, 1974). Eikelenboom y Minkema (1974) demostraron que el síndrome de estrés se desencadenaba con la exposición al gas halotano (Eikelenboom y Minkema, 1974). El padecimiento fue descrito por primera vez por Topel y colaboradores (1968) quienes utilizaron el término Síndrome de Estrés Porcino o PSS (*Porcine Stress Syndrome*) (Topel et al. 1968). El gen RYR-1 es considerado, por sus efectos, como un gen mayor, junto con el gen RN (Rendimiento Napole) (Sellier y Monin, 1994).

Los receptores de la rianodina (*RYR-1*) están localizados en el retículo sarcoplásmico del músculo esquelético formando una red tubular que rodea cada sarcómero y cada miofibrilla. En el retículo se almacena calcio, y es allí donde radica su importancia pues es el que suministra el Ca^{2+} para la contracción (García et al. 1995). La mutación ocasiona una falla en la homeostasis del Calcio en las fibras musculares provocando su salida del retículo sarcoplásmico e interfiriendo con el reingreso del mismo al retículo (Monnier y Lunardi 2000). La mutación se hereda como autosómica recesiva (Cristian, 1972). Los portadores homocigotos (nn) resultan intolerantes a cualquier tensión estresante, por lo que cualquier situación de este tipo tiende a

desencadenar el síndrome el cual se caracteriza por acidez metabólica, elevación de la temperatura corporal de hasta 45° C, taquicardia, rigidez muscular, disnea y muerte (Noguera y Piedrafita, 1992). La muerte se produce debido al incremento de K⁺ sérico, lo que causa disritmia y paro cardíaco. El padecimiento se presenta en la mayoría de las razas porcinas, pero la prevalencia varía con valores que exceden el 90% en algunas razas y linajes (Bonelli y Schifferli 2001). Es mas elevada la prevalencia en razas magras, muy musculosas, por ejemplo Pietrain, Poland China, Landrace y Duroc (Merk, 2000). La mutación ha sido identificada en una gran población de cerdos tanto en Norteamérica como en Inglaterra (O'Brien et al. 1993). Estudios realizados en E. U. A., Canadá, Australia, España, Alemania, Rusia, Corea y otros más, dan constancia de los perjuicios y daños ocasionados por el padecimiento y todos coinciden en que el método para terminar con esta enfermedad es mediante la selección genética. Se han empleado técnicas de biología molecular para identificar animales con la mutación, ya sea en estado homocigoto (nn, afectados) o heterocigoto (Nn, portadores), así como también a los sanos (NN) (Otsu et al. 1991). A principios de la década de los 90 se publico la siguiente prevalencia según la raza: Pietrain 97%, Poland china 80%, Landrace 37%, Large White, Duroc y Hampshire 22%, y Yorkshire 17% (O'Brien, 1995). En una prueba de progenie conducida por *The Nacional Barrow Show*TM de 1991 a 1993 se encontraron las siguientes frecuencias genéticas para varias razas puras; Poland China 0.43, Berkshire 0.14, Spotted 0.09, Hamshire 0.08, las razas Landrace y Yorkshire 0.07, Duroc 0.05. (Goodwin, 1994).

Algunas investigaciones afirman que las pérdidas económicas son importantes debido a que se reducen significativamente la fertilidad, la reproducción y la ganancia diaria de peso en los cerdos susceptibles al estrés. Los investigadores hacen un llamado a las autoridades y a los productores porcícolos a terminar con la práctica de introducir animales afectados con la mutación dentro de sus explotaciones (Wendt et al. 2000). Los cerdos portadores de esta mutación producen carne tipo PSE, pálida-suave-exudativa (*pale- soft- exudative*) (Essen-Gustavsson et al 1992; Weaver et al. 2000). La carne PSE es pálida (Figura 2), tiene una suavidad excesiva al corte y pierde líquidos rápidamente al calentarse.



Figura 2. Carne PSE y carne normal

La característica PSE se valora mediante un índice de calidad de carne que combina color, el pH a las 24 horas después del sacrificio, y la capacidad de retención del agua (CRA) (Bonelli y Schifferli 2001). Los portadores de alelo mutante (n) producen canales menos valiosas para los empacadores y los procesadores debido a que la carne resulta pálida, menos tierna, con menor grasa intramuscular y mayor pérdida por goteo (Mabry, et al. 1998).

Aunque el gen tiene relación con canales magras también reduce la ternura y la jugosidad de la carne (Ellis et al, 1998). En estos animales después de la muerte, el ATP se degrada rápidamente, cuando la temperatura corporal esta por encima de los 30 °C, por lo que el pH final (5.5) se alcanza muy rápidamente (Guerrero y Arteaga. 1990).

Estas observaciones contrastan con las ventajas que señalan algunos autores en donde se incluyen mejor eficiencia alimenticia, así como canales más magras y mejor rendimiento de la canal en los animales portadores del gen *RZR-1*, en comparación con los animales libres de él (Leach, et al. 1996). De Vries et al (1999) sugieren que todas las madres de los cerdos de abasto sean libres del gen del Halotano ya que el uso del estatus Hal de los sementales puede ser utilizado de manera planeada (De Vries et al 1999). Algunos criadores proveen cerdos Pietrain HAL-negativos y HAL-positivos con lo cual pueden proporcionar las siguientes opciones de crianza: 1) fijando el gen en una línea de fondo y eliminándolo en otra y 2) manteniendo la segregación del gen y realizando las pruebas de ADN en los animales potenciales para la cría que se usaran a nivel comercial. En la primera opción hay costos iniciales altos por la prueba del ADN, pero después los únicos costos extras son el mantenimiento y mejora de líneas múltiples dentro de una raza. En la segunda opción, las pruebas de ADN tienen que realizarse continuamente en los animales con potencial para la cría (De Vries et al 1999).

Apareando sementales heterocigotos portadores (Nn) con cerdas homocigotos libres (NN) podemos esperar una descendencia de 50% libre (NN) y 50% portador (Nn). Por otro lado al aparear sementales homocigotos

afectados (nn) con cerdas homocigotos libres (NN) el 100% de las crías serán heterocigotos portadores (Nn) (Mabry, et al. 1998).

En un estudio realizado por Wysocki y colaboradores (1998) se concluye que los verracos homocigotos recesivos (nn) eyaculan menos volumen y cantidad de espermatozoides, por lo que no recomiendan que el esperma de estos verracos sea utilizado para la inseminación artificial ya que tienen baja fertilidad (Wysocki, et al. 1998).

Dada la naturaleza genética de la enfermedad, la frecuencia en la población porcina en México puede tender a incrementarse si no se aplica un sistema de selección que permita eliminar o restringir el uso de animales portadores o afectados. Por todo lo anteriormente señalado, se hace inminente la utilización de técnicas de Biología Molecular (PCR-RFLP) para poder detectar la presencia de la mutación y aplicar las medidas pertinentes para los distintos genotipos (NN, Nn, nn) (Womack, 1992).

El sistema *IGF* (*Insulin-like growth factor*) incluye dos factores relacionados, el *IGF-1* y el *IGF-2*, también incluye un grupo de proteínas conocidas como *IGFBP* (*IGF-binding protein*) (Jones y Clemmons, 1995). Junto con la hormona del crecimiento integran el punto de control endocrino del crecimiento y el estado nutricional animal (Tor, et al. 2001). El papel de *IGF-1* e *IGF-2* en el desarrollo fetal ha sido demostrado utilizando ratones *Knockout*, en donde los ratones de la línea germinal que transmitió el gen inactivo nacieron más pequeños y pesando sólo el 60% del peso normal (DeChaira, et al. 1990; Baker,

et al. 1993; Sterle, et al. 1998). Se ha demostrado que ratones quimera con dos copias paternas de *IGF-2* frecuentemente mueren en la etapa perinatal y comúnmente muestran un hiperplasia en los cartilagos de las costillas (McLaughlin, et al.1997). Se ha observado la expresión bialelica de *IGF-2* en la medula ósea, mientras que en la sangre periférica de niños y adultos *IGF-2* muestra impronta genómica (Morrison, et al. 2000). El gen *IGF-2* usa por lo menos tres promotores y expresa varios transcritos en muchos tejidos durante el periodo embrionario y neonatal (DeChaira, et al. 1990). La placenta es el primer sitio de producción de *IGF-2* fetal (Simmen, et al. 1992).

Nezer y colaboradores (1999) confirmaron que el gen *IGF-2* se transmite como gen de impronta genómica (*Imprinted genes*) al expresarse sólo el alelo paterno, también encontraron una transición G-A (nucleótido 241) en la secuencia líder, correspondiente al exon 2 en el *IGF-2* humano (Nezer, et al 1999). La copia materna de *IGF-2* es silenciada en la mayoría de los tejidos humanos pero en el plexo coroideo y en el hígado adulto ambos alelos son expresados (Morrison, et al. 2000).

El QTL (*Quantitative Trait Loci*) de *IGF-2* que influye sobre la masa muscular y la acumulación de grasa, también ejerce efecto sobre el contenido magro del jamón (Jeon et al. 1999; Nezer et al. 1999). El marcador microsatélite SWC9 se localiza en el UTR 3' de *IGF-2* y el gen se localiza en el cromosoma 2p del cerdo (SSC2p) (Nezer, et al. 1999; Jeon, et al. 1999). Este QTL es causado por una sustitución de un nucleótido (G - A) en el intron 3-G3072A del gen *IGF-2*. (Van Laere, et al. 2003). La mutación sucede en una isla CpG evolutivamente conservada y que es hipometilada en el músculo esquelético y es la causa del

QTN o nucleótido de caracteres cuantitativos (*Quantitative Trait Nucleotide*). A esta mutación se le une un represor de la transcripción que se une al alelo *q* (libre) que tiene Guanina, pero no al alelo *Q* (mutante) que tiene Adenina (Van Laere, et al. 2003). Se asume que el nuevo alelo (*Q*) promotor del desarrollo muscular ocurrido generaciones atrás en un cromosoma portador del alelo tipo libre (*q*) debido a la fuerte selección para el crecimiento magro en las poblaciones de cerdos comerciales (Van Laere, et al. 2003).

La impronta genómica se produce por una metilación específica del ADN en los gametos de tal manera que la expresión de uno de los dos genes paternos se ve inhibida (Varona, et al. 2001). En otras palabras, la impronta genómica es una modificación epigenética reversible de un alelo específico que depende del origen paterno del alelo. Por lo tanto es una desviación de la herencia mendeliana (Ruvinsky, 1999). Los genes de impronta genómica son regulados por modificaciones epigenéticas en donde está implicada la metilación del ADN (Davies, et al. 2002; Eden, et al. 2001). De tal manera que los cambios observados en el fenotipo no son resultado de cambios en la secuencia de nucleótidos del ADN (Alberts, et al. 2002). La expresión paterna o materna del alelo puede causar importantes cambios en la ontogénesis. El crecimiento y el desarrollo del embrión están entre los rasgos afectados por la impronta genómica (Ruvinsky, 1999).

En humanos, el síndrome Beckwith-Wiedemann se caracteriza por malformaciones congénitas que incluyen hiperplasia y muerte perinatal y está asociado con la duplicación paterna del gen *IGF-2* y por consecuencia con una excesiva expresión de la hormona (McLaughlin, et al. 1997). En los mamíferos

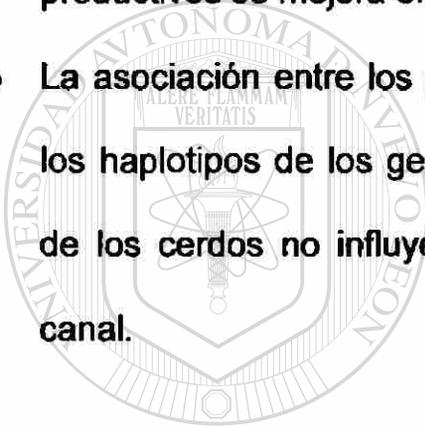
los genes de impronta genómica son expresados sólo por uno de los cromosomas paternos y son de gran importancia para el desarrollo de la placenta y el crecimiento fetal (Tilghman, S. M. 1999; Reik y Walter, 2001). Se ha propuesto que el gen *IGF-2*, y quizá otros genes de impronta, sean los que ejercen control en el suministro y la demanda de nutrientes, de la madre al feto (Constancia, et al. 2002).

Muchos esfuerzos se han encaminado a la localización de los denominados Loci de caracteres cuantitativos o QTL's relacionados con el desarrollo de masa muscular y deposición de grasa dorsal, en donde el candidato es el gen *IGF-2* (Nezer, et al. 1999; Jeon, et al. 1999; de Koning, et al. 2000; Nezer, et al. 2003; Van Laere, et al. 2003; Jungerius, et al. 2004). De igual manera se han realizado diversas investigaciones para identificar los genes que tienen relación con la calidad de la canal y la carne del cerdo aprovechando los últimos avances de biología molecular (Rothschild, et al. 2003). Recientemente se han realizado diversos estudios en ratones donde se involucran los genes *H19* y el *IGF-2*, ambos genes de impronta genómica (el *H19* es de impronta materna y el *IGF-2* de impronta paterna) demostrando que esta región de metilación diferenciada (*DMR, differentially methylated region*) controla la expresión monoalélica de ambos genes por diferente vía (Srivastava, et al. 2000; Davies, et al 2002; Amarger, et al. 2002; Lopes, et al. 2003; Kono, et al. 2004). El gen *IGF-2* es muy polimórfico, se conocen 8 alelos, el más pequeño de 241 pb y el mayor de 260 pb (Vidal, 2001).

1.5 Hipótesis

Las hipótesis planteadas en el presente estudio son las siguientes:

- Existe una asociación entre el polimorfismo del gen *RYR-1* con los haplotipos de los genes responsables del carácter magro de la canal de los cerdos.
- Mediante la asociación de los polimorfismos de los genes *RYR-1* e *IGF-2* con los haplotipos de los genes responsables de los caracteres productivos se mejora el rendimiento y calidad de la canal porcina.
- La asociación entre los polimorfismos de los genes *RYR-1* e *IGF-2* con los haplotipos de los genes responsables de los caracteres productivos de los cerdos no influye en la mejora del rendimiento y calidad de la canal.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



2. MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio se analizó el genotipo de los genes *RYR-1* e *IGF-2* mediante PCR-RFLP asociándolos con caracteres productivos en una población porcina de tipo comercial procedente de una granja registrada en la Asociación de Porcicultores de Cadereyta Nuevo León, México.

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Genética Molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

2.1. Obtención de las muestras sanguíneas

Se obtuvieron muestras sanguíneas de 4 sementales y 33 hembras como P₁ (generación paterna; n=37). Así como también de 292 crías de la primera generación filial (F₁; n=292) formando un total de 329 animales muestreados. Los P₁ ya poseían identificación y registro, a los lechones (F₁) se les colocó un arete con una identificación individual formada por dos cifras, una el número de la madre y la otra el número del lechón de la camada (por ejemplo; 374 - 1). Esta identificación fue adicional a los registros y tatuajes propios del manejo de la granja.

La extracción sanguínea para la posterior obtención de ADN se realizó por punción de la vena cava craneal, en la mayoría de los casos (Figura 3), y la

vena auricular caudal (Figura 4) utilizando tubos al vacío con EDTA (Figura 5). Cada tubo fue identificado y registrado en la base de datos con el número de registro del cerdo correspondiente para posteriormente ser almacenado en un congelador vertical a -20°C .



Figura 3. Extracción de sangre de la vena cava craneal



Figura 4. Extracción de sangre de la vena auricular caudal.



Figura 5. Tubos al vacío con EDTA para la recolección de sangre.

2.2. Caracteres fenotípicos valorados

El control y manejo de los animales se realizó de manera rutinaria con las normas de manejo, alimentación y control sanitario propios de una explotación tecnificada de dos sitios (Ver página 11). Se registraron los siguientes datos:

- Número y raza del semental
- Número de la cerda
- Fecha de servicio
- Fecha de parto y registro de la camada
- Número de lechones nacidos (vivos, muertos y momificados)
- Sexo de los F₁
- Peso de la camada al nacer
- Peso promedio del lechón
- Fecha de destete
- Días en lactancia
- Muertos en lactancia
- Número de destetados
- Sexo de los destetados

- **Peso de la camada al destete**
- **Peso promedio del lechón al destete**
- **Peso del lechón al destete**
- **Días en destete**
- **Peso al final del destete**
- **Días en desarrollo**
- **Peso al final del desarrollo**
- **Peso al final de la engorda**
- **Fecha del sacrificio**
- **Días en engorda**

De la canal se valoraron los siguientes datos:

- **Peso de la canal caliente**
- **Medición con regla del espesor de la grasa dorsal (mm) a nivel de la 10^a y 11^a costilla**
- **Rendimiento de la canal (%)**

Los datos recabados fueron analizados mediante un análisis de varianza con el programa estadístico SPSS versión 12. 2005.

2.3. Extracción del ADN

Para realizar la extracción del ADN genómico de las muestras sanguíneas se utilizó la técnica del Fenol-Cloroformo. Se colocaron 300 µl de sangre completa de cada muestra en un tubo eppendorf de 1.5 ml, las muestras se

procesaron por duplicado y se inició el proceso de lisis de las células sanguíneas rojas por cambio de presión osmótica, mediante lavados con buffer TE (Tris-HCL pH 8.0 a 10 mM, EDTA 1 mM) de la siguiente manera: agregar 600 µl de buffer TE, mezclar vigorosamente, centrifugar durante 1 minuto a 12,000 rpm. Vaciar el sobrenadante y repetir el lavado 5 veces más o hasta obtener el precipitado de células blancas.

Después de vaciar el último sobrenadante se continuó con la lisis de las células blancas mediante la adición de 100 µl de tampón de lisis, buffer K (KCL 50 mM, Tris HCL 10 mM, 0.5% Tween 20 y 2 µl de proteinasa K 10 mg /ml) y se incubó durante 4 horas a 56° C.

Después de la incubación se procedió a precipitar las proteínas agregando 200 µl de Fenol y 200 µl de Cloroformo/Alcohol Isoamílico (24:1), se mezcló y se centrifugó durante 10 minutos a 14,000 rpm. En la centrifugación se producen dos fases y una interfase; la fase inferior orgánica llevando las proteínas, la interfase turbia y blanca y una fase superior acuosa conteniendo los ácidos nucleicos. La fase acuosa de ambas muestras se transfiere a un nuevo tubo eppendorf procurando no tocar la interfase, obteniendo un volumen de 200 µl.

Posteriormente se agregaron 200 µl de Cloroformo/Alcohol isoamílico (24:1), se mezcló y se centrifugó durante 10 minutos a 14,000 rpm.

La fase acuosa se transfirió a un nuevo tubo eppendorf y se agregaron 35.3 µl de NaCl (al 2.5 M), 1 ml de Etanol puro (100%) a -20° C. Después se procedió a invertir suavemente el tubo hasta observar la formación de delgadas hebras de ADN (Figura 6).

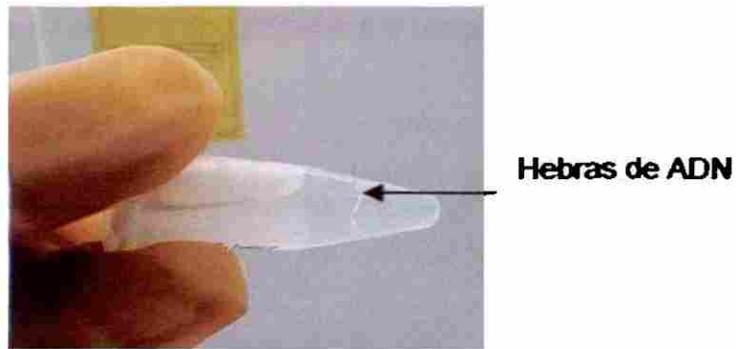


Figura 6. Visualización de las hebras de ADN

Luego se centrifugó durante 10 minutos a 12,000 rpm. y se vació el sobrenadante cuidando la pastilla que se fija a la base del tubo. La pastilla se lavó con 1 ml de Etanol al 70% y se mezcló para centrifugar durante 5 minutos a 12,000 rpm. Se decantó el etanol y se dejó evaporar hasta que la pastilla se seco, después de secarse se rehidrató con 100 μ l de buffer TE 1X, incubando durante 1 hora a 56° C. Posteriormente se valoró la presencia y la cantidad de ADN en gel de agarosa. El ADN se almacenó a -20° C hasta su utilización.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

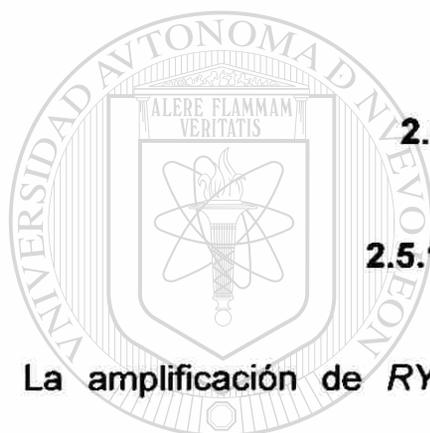
2.4. Verificación de la presencia de DNA

Para verificar la presencia de ADN se prepararon geles de agarosa al 0.8% (Figura 8) diluida en buffer TAE (0.04 M Tris-acetato, 0.001 M EDTA) al cual se le incorporó el bromuro de etidio (0.5 mg /ml) y se sometieron a electroforesis, en presencia de buffer TAE, corridos a 75 voltios durante 30 minutos en la cámara de electroforesis. Las cargas se prepararon tomando 14 μ l de buffer TE (1X), 4 μ l de tampón de carga (azul de bromofenol) y 2 μ l de ADN mezclando por pipeteo las cuales se depositaron en cada posillo del gel de agarosa.

La visualización se realizó en un aparato Fluor-S BioRad de luz ultra violeta en donde fue capturada la imagen y guardada en un archivo electrónico.



Figura 7. Verificación de la presencia de ADN en gel de agarosa al 0.8%. Los carriles 1-16, 18, y 20 muestran presencia de ADN extraído. En los carriles 17 y 19 no se observó ADN.



2.5. Genotipado de *RYR-1*

2.5.1. Amplificación de *RYR-1*

La amplificación de *RYR-1* se realizó según el protocolo descrito por Sánchez y col. (1993). Se amplificó un fragmento de 659 pb del exon 17 del Gen *RYR-1* localizado en SSC 6, lugar donde se localiza la mutación puntual en el nucleótido 1834 (transición C/T).

Los cebadores (Alpha DNA) utilizados fueron:

RYR-1 F; 5'TCC AGT TTG CCA CAG GTC CTA CCA (hacia delante)

RYR-1 R; 5'ATT CAC CGG AGT GGA GTC TCT GAG (reversa)

Las condiciones de reacción fueron las siguientes: 2.5 μ l de buffer de PCR (1X), 1 μ l de dNTP's (0.2 mM), 0.5 μ l MgCl (1 mM), 0.5 μ l de cada cebador (0.2 μ M), 1.25 U de enzima ADN polimerasa (5 U/ μ l), 17.37 μ l de agua ultra pura libre de DNAsas y 2.5 μ l de ADN genómico en un volumen final de 25 μ l.

Los ciclos de la PCR fueron los siguientes: Desnaturalización inicial 94°C / 3min. 34 ciclos de; Desnaturalización dentro del ciclo 94°C / 1minuto; Hibridación de iniciadores 53°C / 2 minutos; Extensión de ADN 72° C / 3 minutos; Extensión final del ADN 72° C / 5 minutos. Almacenamiento temporal 4°C / 24 hrs. (Figura 8).

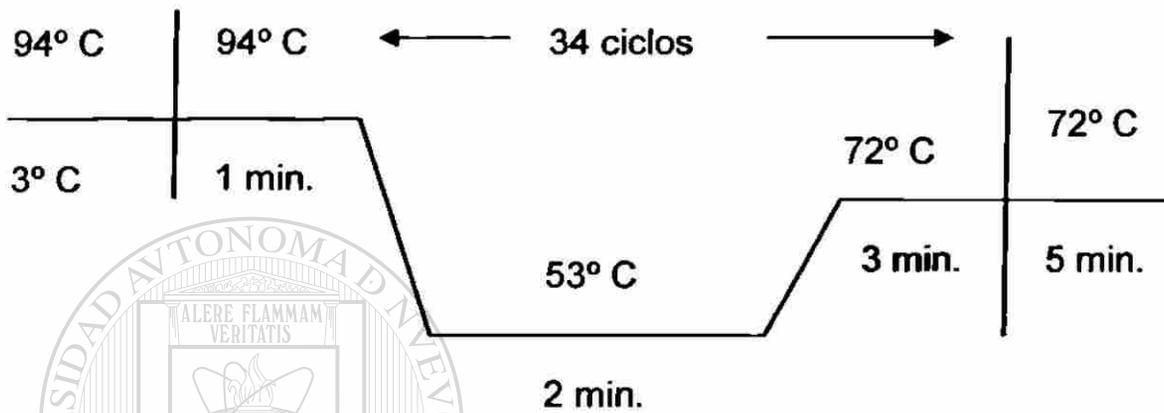


Figura 8. Ciclos de la PCR para amplificar fragmento de *RYR-1*

Para realizar la PCR se utilizó un termociclador PTC-100 de *MJ Research Inc.* (Fig. 9)



Figura 9. Termociclador PTC-100 (*MJ Research Inc.*)

Para verificar la amplificación se tomaron 8 μ l del producto de PCR más 2 μ l de azul de bromofenol depositando los 10 μ l en cada posillo del gel de agarosa (grado molecular) al 1.8% con Bromuro de Etidio (1 μ l / ml). Se colocó un marcador de peso molecular N° VI (*Bulk*) para comprobar el tamaño del fragmento amplificado. La electroforesis se corrió a 100 voltios durante 30 minutos y se visualizó en un aparato Fluor-S de luz ultra violeta en donde fue capturada la imagen y guardada en un archivo electrónico (Figura 10).

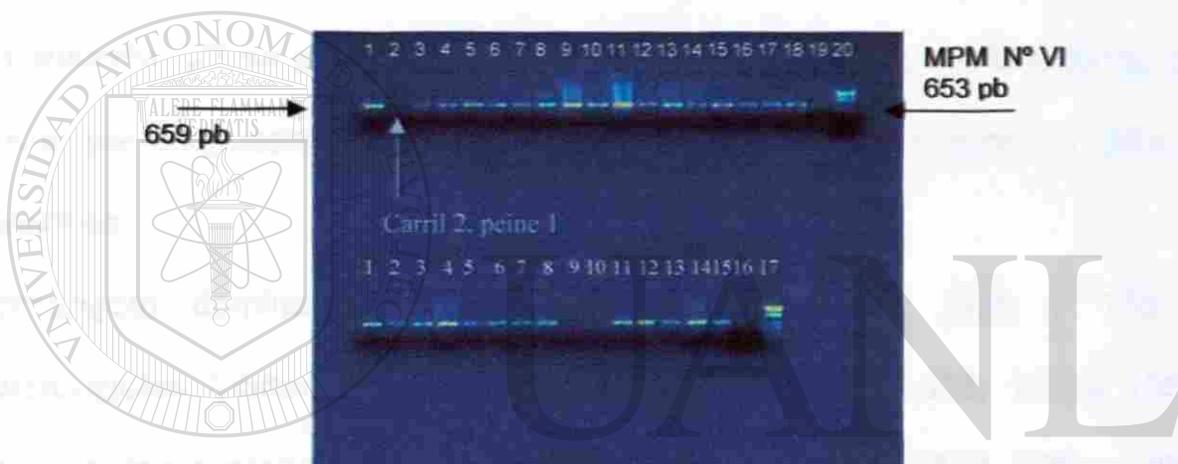


Figura 10. Gel de verificación de la amplificación del fragmento de 659 pb de RYR-1. Los controles negativos se depositaron en el carril 2 del peine 1 y en el 16 del peine 2. Los carriles 9 y 10 del peine 2 no amplificaron. En los carriles 20 del peine 1 y 17 del peine 2 se colocó el marcador de peso molecular No VI (*Bulk*)

2.5.2. Digestión del fragmento de ADN amplificado del gen RYR-1

La digestión del producto de PCR amplificado del gen RYR-1 se realizó utilizando la enzima Bsi HKA I (*New England BioLabs*), con las siguientes condiciones: 2 μ l de buffer (10X), 2 μ l de BSA (10X), 0.8 μ l de enzima Bsi HKA I (10 U/ μ l), 7.2 μ l de producto de PCR, 8 μ l de agua UP libre de DNAsas. En un

volumen final de 20 μ l. La reacción se incubó a 37° C durante 4 horas, verificando la digestión en gel de agarosa de alta resolución al 2%, separando los fragmentos obtenidos electroforesis a 100 voltios durante 1 hora.

Las cargas de verificación se prepararon tomando 18 μ l del producto digerido, agregando 4 μ l de azul de bromofenol. Se utilizó el marcador de peso molecular No. VI (*Bulk*) (0.01 μ g/ μ l). La visualización se realizó en el aparato *Fluor-S* de luz ultravioleta. El fragmento amplificado (de 659 pb) posee un sitio de restricción que se encuentra en todos los individuos y cuando está presente la transición C/T se produce un nuevo sitio de restricción para la enzima, de tal forma que se pueden observar los siguientes fragmentos para los diferentes genotipos:

Homocigoto dominante (libre, N/N), dos fragmentos (524 y 135 pb).

Heterocigotos (portadores, N/n), cuatro fragmentos (524, 358, 166 y 135 pb)

Homocigotos recesivos (afectados, n/n), tres fragmentos (358, 166 y 135 pb)

(MacLennan, 1992; Fujii et al. 1991) (Figura 11)

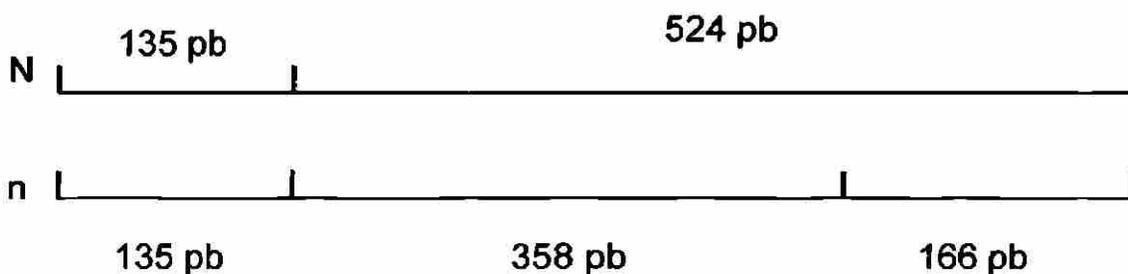


Figura 11. Sitios de restricción para el fragmento de ADN amplificado del gen *RYR-1*

En las figuras 12, 13 y 14 se muestran geles de agarosa con el producto de PCR amplificado del gen *RYR-1*, los sitios de restricción para los diferentes genotipos se muestran como bandas de diferentes tamaños.

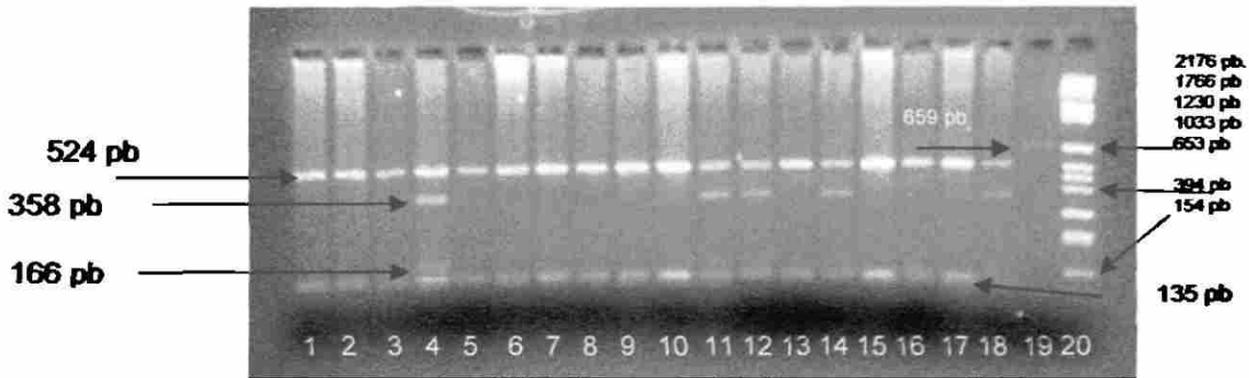


Figura 12. Genotipado del gen *RYR-1* en gel de agarosa. En los carriles 4, 11, 12, 14 y 18 se observan las cuatro bandas típicas de un heterocigoto (Nn). En el carril 19 se depositó, como control, producto de PCR amplificado de 659 pb. En el carril 20 se depositó el marcador de peso molecular No VI (*Bulk*).

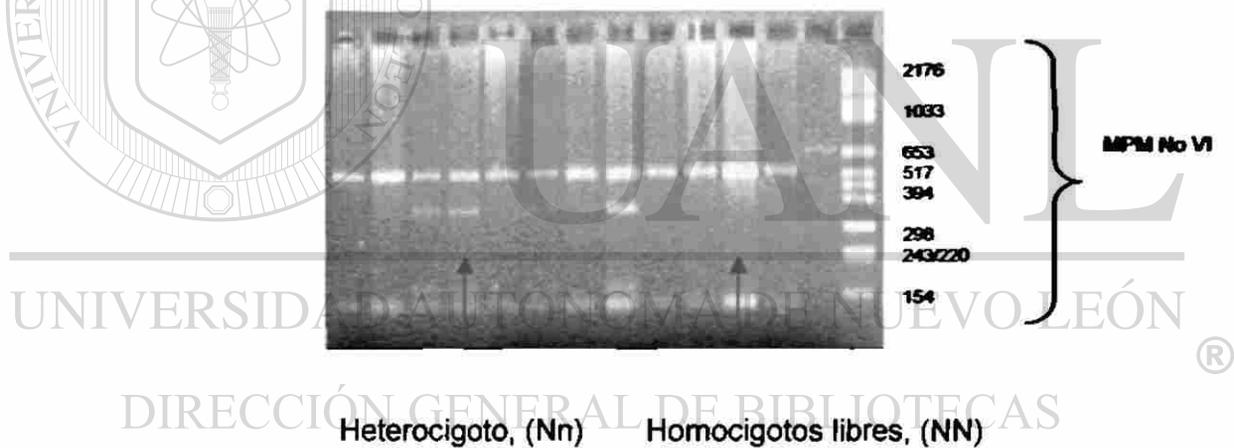


Figura 13. Gel de agarosa; Heterocigoto (4 bandas), homocigoto (2 bandas), control 659 pb y MPM

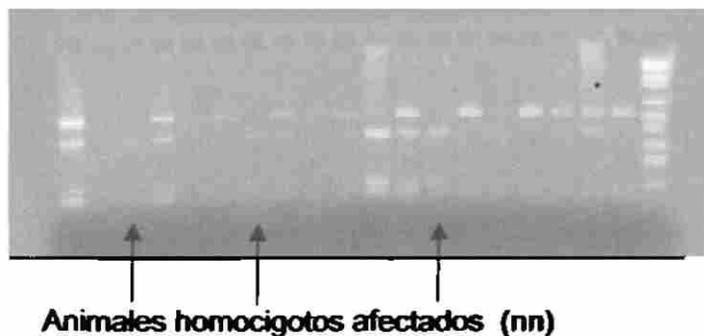


Figura 14. Gel de agarosa; las flechas color rojo señalan a los homocigotos recesivo (nn) los cuales presentan tres bandas.

2.6. Genotipado de *IGF-2*

2.6.1. Amplificación de *IGF-2*

La amplificación de *IGF-2* se realizó en el microsatélite ubicado en la región 3' UTR del gen siguiendo el protocolo de Jeon, et al (1999).

Los cebadores fueron los siguientes:

IGF-2 Fw (hacia delante) ; 5'-GTT TCT CCT GTA CCC ACA CGC ATC CC – 3'

IGF-2 Rv (reversa) 5'- CTA CAT AGC TGG GCT CAG GG

El extremo 5' del cebador para *IGF-2* Fw se marcó con (Carboxifluorosceina, FAM) para ser detectado por el secuenciador automático de electroforesis capilar (Perkin Elmer). Las condiciones de reacción fueron las siguientes: 2.5 µl de Buffer de PCR (1X), 0.5 µl de MgCl₂ (1mM), 1 µl de dNTP's (0.2 mM), 0.1 µl de cada cebador (0.2 µM), 0.1 µl de ADN polimerasa (0.5 U), 18.2 µl de agua ultra purificada. Volumen final 25 µl (Jeon, et al. 1999).

Ciclos de la PCR Desnaturalización inicial 94° C / 10 min. 32 ciclos de; Desnaturalización dentro del ciclo 94°C / 15 segundos. Hibridación de iniciadores 56°C / 30 seg. Extensión de ADN 72° C / 1 minuto. Extensión final del ADN 72°C / 30 minutos. Almacenamiento temporal 4°C / 24 hrs. (Figura 15).

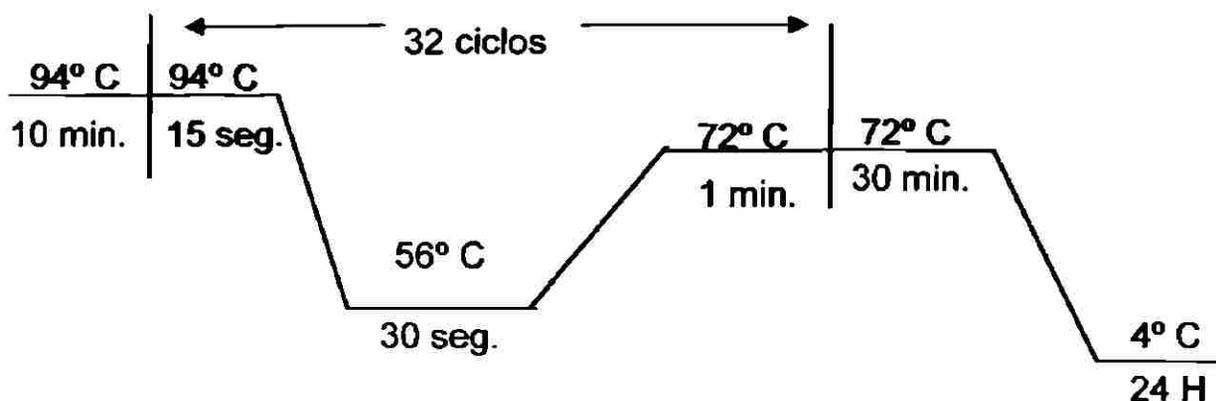


Figura 15. Ciclos de la PCR para *IGF-2*

Después de la amplificación se realizó la verificación en gel de agarosa grado molecular al 1.8%, para lo cual se pesaron 3.6 g de agarosa que fueron mezclados, por fundición, con 200 ml de TAE 1X, después se dejó enfriar a 55° C aproximadamente para agregarle el bromuro de etidio (1µl/ml). Luego se depositó en la bandeja y se colocaron los peines para elaborar los posillos.

Las cargas se prepararon con 8 µl del producto de PCR más 2 µl de glicerol al 50% como tampón de carga, se depositaron los 10 µl en cada posillo y se corrió electroforesis a 100 voltios durante 1 hora.

El gel se trasladó al aparato *Fluor S-multimager* para visualizar la banda y guardar la imagen en un archivo electrónico (Figura 16).

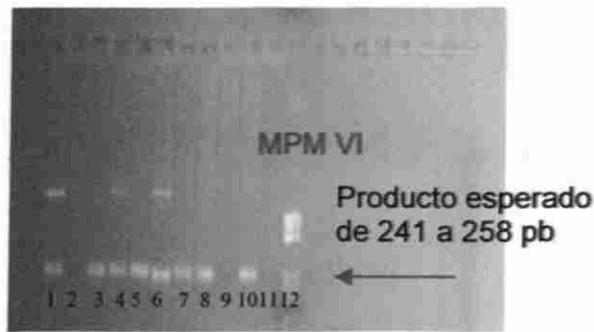


Figura 16. Verificación de la amplificación del fragmento de *IGF-2*. Las muestras de los carriles 2, 9 y 11 no amplificaron. En el carril 12 se colocó un marcador de peso molecular No VI (*Bulk*)

Para determinar el tamaño del alelo de *IGF-2*, se desnaturaliza una alícuota de 1.2 μ l del producto amplificado con 11 μ l de formamida desionizada y 0.3 μ l de marcador de peso molecular TAMRA (*Applied Biosystems*) marcado con fluorocromo. En el electroferograma los picos de color azul corresponden a los fragmentos marcados con FAM. Se conocen 6 alelos, el más pequeño de 241 pb, el mayor de 258 pb (Nezer, et al. 1999; Jeon et al. 1999).

El producto amplificado fue enviado a la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Autónoma de Nuevo León, para la determinación del tamaño de los alelos en el secuenciador ABI Prism 373 A (*Perkin Elmer*). Los resultados se recibieron vía correo electrónico, se analizaron y se incorporaron a la base de datos electrónica.

3. RESULTADOS

Originalmente se recolectaron las muestras sanguíneas de 37 P_1 (4 machos, 33 hembras, $P_1= 37$) y de 292 crías productos de las cruzas ($F_1= 292$), siendo un total de 329 animales muestreados. La extracción del ADN se realizó en el total de las muestras ($n=329$).

Debido a circunstancias tales como pérdida de aretes de identificación, decesos, datos imprecisos y omisiones en los datos, se tuvieron que dar de baja durante el transcurso del estudio a 7 cerdas P_1 y sus camadas (50 F_1), así como también a 52 F_1 más, sumando un total de 109 animales dados de baja durante el transcurso de la investigación (Tabla 11).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
Tabla 11. Población original y definitiva
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Población	Original	Definitiva
Machos	4	4
Hembras	33	26
F_1	292	190
Totales	329	220

3.1 Frecuencia genotípica y alélica de los genes *RYR-1* e *IGF-2*

La frecuencia genotípica se estimó dividiendo el número de observaciones de cada genotipo entre el total de los animales analizados (Riojas, et al. 2005).

De los 220 cerdos que llegaron al final del estudio se obtuvieron los siguientes resultados. Se genotiparon 30 P_1 (Generación paterna; 4 machos, y 26 hembras) y 190 F_1 ($n=220$).

Los resultados para el gen *RYR-1* fueron los siguientes:

- Cerdos con el genotipo libre (NN): 165, de los cuales 3 fueron sementales, 18 cerdas P_1 y 144 F_1 . Teniendo una frecuencia genotípica de 0.75.
- Con el genotipo portador (Nn): 52, de los cuales 1 fue un semental, 9 fueron cerdas P_1 y 43 F_1 . Teniendo una frecuencia genotípica de 0.24.
- Con el genotipo afectado (nn): 3, los cuales fueron F_1 . Teniendo una frecuencia genotípica de 0.01. (Tabla 12, figura 17).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 12. Frecuencia genotípica *RYR-1*

Genotipo <i>RYR-1</i>	Nº de animales	Frecuencia genotípica
NN	165	0.75
Nn	52	0.24
nn	3	0.01
Total	220	1

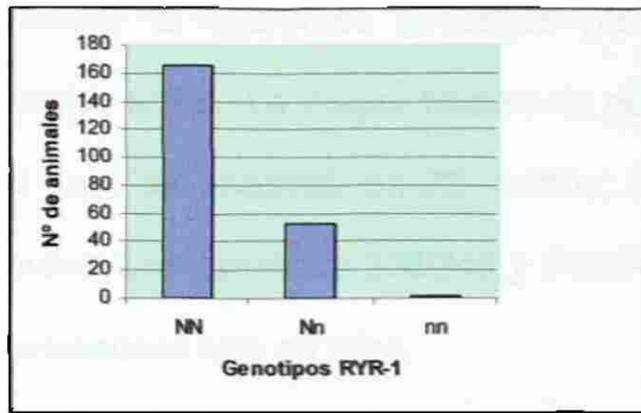


Figura 17. Gráfica de la frecuencia genotípica de *RYR-1*

En cuanto a la frecuencia alélica se observaron 382 alelos libres (N) teniendo una frecuencia alélica de 0.87. El alelo afectado (n) tuvo 58 observaciones teniendo una frecuencia alélica de 0.13 (Tabla 13 y figura 18).

La frecuencia alélica se obtuvo dividiendo el número de observaciones de cada alelo entre el número total de observaciones.

Tabla 13. Frecuencia Alélica *RYR-1*

Alelo	Observaciones	Frecuencia alélica
N	382	0.87
n	58	0.13
Total	440	1

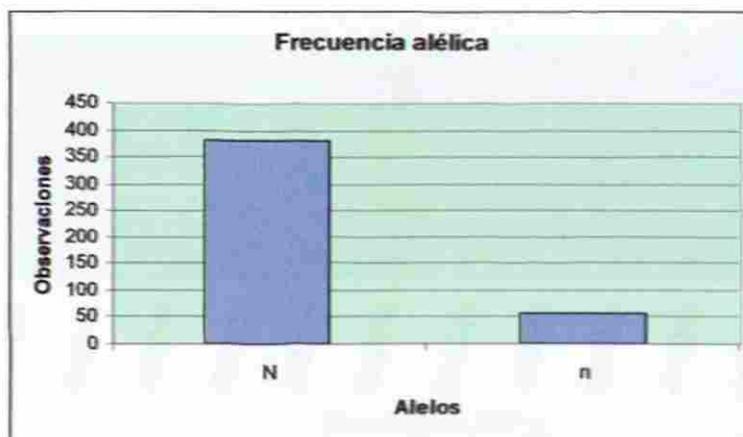


Figura 18. Gráfica de la frecuencia alélica de *RYR-1*

Para *IGF-2* obtuvimos 12 diferentes genotipos (Tabla 14 y figura 19) formados por 6 diferentes alelos. La mayor frecuencia genotípica la obtuvo el genotipo 238/238 el cual se encontró en 78 cerdos, seguido del 238/248 encontrado en 61 cerdos. Los genotipos 236/248 y 246/248 correspondieron a dos hembras P_1 , observándose solo en ellas.

Tabla 14. Frecuencia genotípica para *IGF-2*

Genotipos <i>IGF-2</i>	P_1	F_1	Totales	Frecuencia genotípica
232/238	1	12	13	0.06
232/244	0	4	4	0.02
232/248	0	11	11	0.05
236/238	2	10	12	0.05
236/248	1	0	1	0.004
238/238	4	74	78	0.35
238/244	3	14	17	0.08
238/246	0	5	5	0.022
238/248	12	49	61	0.28
244/248	4	5	9	0.04
246/248	1	0	1	0.004
248/248	2	6	8	0.04
Totales	30	190	220	1

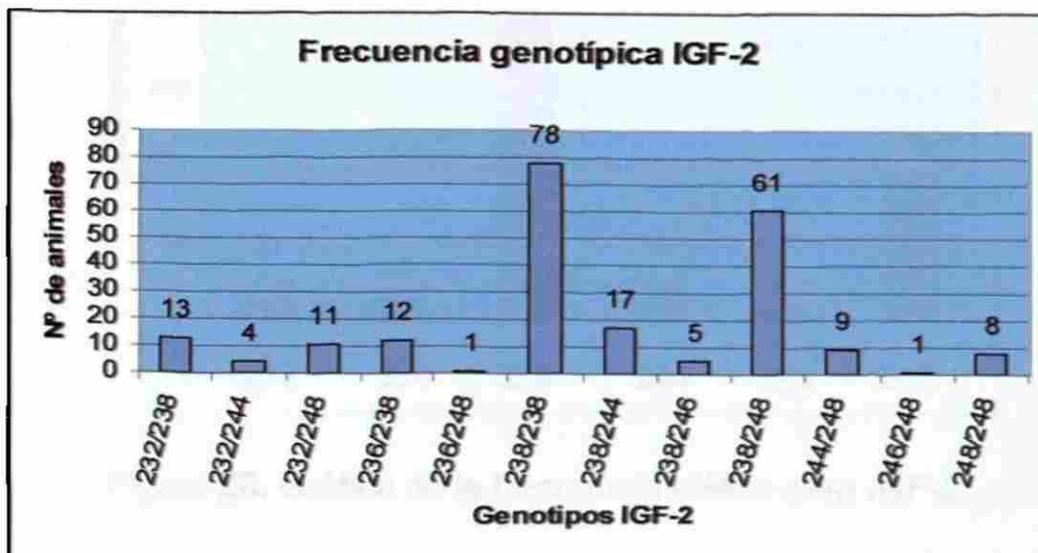


Figura 19. Gráfica de la frecuencia genotípica para *IGF-2*

Los tamaños de los alelos fueron de 232, 236, 238, 244, 246 y 248 pb. El alelo de 238 pb fue el que presentó la mayor frecuencia alélica (0.6), seguido del alelo de 248 pb (0.23). El alelo menos observado fue el de 246 pb (0.01) (Tabla 15 y figura 20).

Tabla 15. Frecuencia alélica para *IGF-2*

Alelo	Observaciones	Frecuencia alélica
232	28	0.06
236	13	0.03
238	264	0.6
244	30	0.07
246	6	0.01
248	99	0.23
Totales	440	1

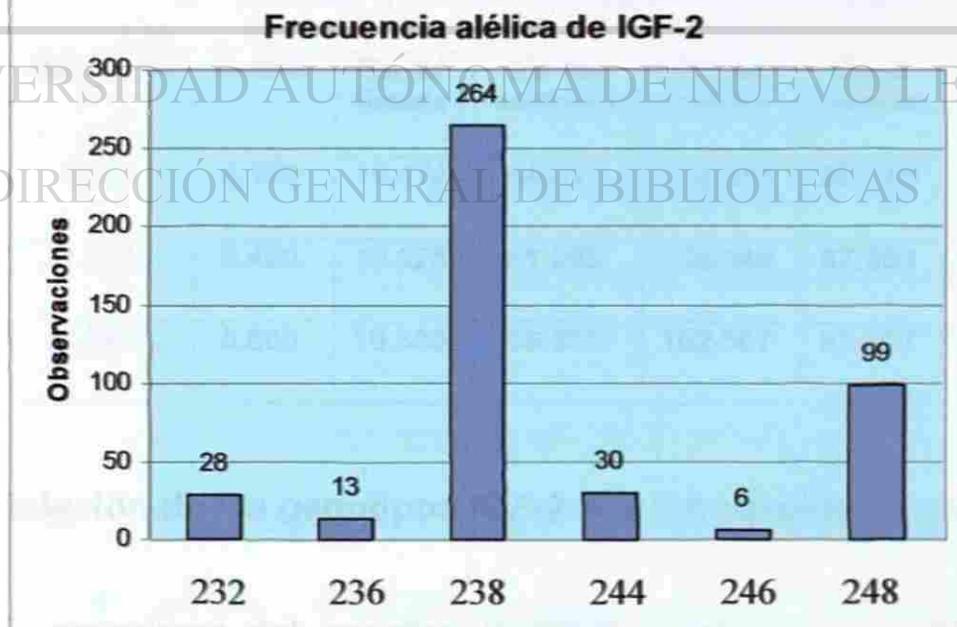


Figura 20. Gráfica de la frecuencia alélica para *IGF-2*

3.2. Relación de los genotipos *RYR-1* con los caracteres productivos

Al relacionar los diversos genotipos de *RYR-1* de los F₁ con los caracteres productivos analizados, y de estos los valores promedio, podemos observar que los individuos con el genotipo homocigoto recesivo *RYR-1* (nn) tuvieron en promedio un mayor peso al nacer (1.727 kg.) más sin embargo esta ventaja disminuyó al momento de terminar la lactación siendo estos (nn) los que menor peso registraron al ser destetados (5.5 kg.) Los individuos heterocigotos para *RYR-1* (Nn) tuvieron el mejor peso promedio al momento del destete (6.400 kg.) mostrando ventaja también al momento de finalizar la engorda (108.349 kg). Estos individuos sin embargo mostraron el mayor promedio de grasa dorsal (18 mm). Los homocigotos recesivos registraron el menor nivel de grasa dorsal (15 mm) (Tabla 16). Todos lo cerdos mostraron un rendimiento similar de la canal.

Tabla 16. Pesos promedio por etapa para *RYR-1* (kg.)

Genotipo <i>RYR-1</i>	Nacimiento	Destete	Fin del destete	Fin del desarrollo	Fin de engorda	Canal caliente	Grasa Dorsal (mm)	Rendto. canal (%)
NN	1.500	6.159	19.174	64.313	105.813	86.149	16	81%
Nn	1.571	6.400	19.928	61.023	108.349	87.863	18	81%
nn	1.727	5.500	19.833	59.333	102.667	83.167	15	81%

3.3. Relación de los genotipos *IGF-2* con los caracteres productivos

Los F₁ portadores del genotipo 244/248 y 248/248 de *IGF-2*, mostraron comportamientos similares en cuanto al peso promedio al nacimiento (1.188 kg.), siendo los que registraron el más bajo peso al nacer, aunque habría que

considerar que los 11 F₁ pertenecen a la misma camada, que inicialmente contaba con 15 lechones. Los genotipos 238/248 y 238/238 mostraron pesos intermedios al nacimiento (1.544 y 1.546 kg. respectivamente). El genotipo 238/246 obtuvo el mayor peso promedio al nacimiento (1.727 kg), seguido del genotipo 238/244 (1.653 kg). Al momento del destete, los individuos con el genotipo 238/248 lograron superar los pesos de todos los demás individuos (de + 2.17 a + 3.8 kg) ubicándose 2.17 kg. por arriba del promedio general (5.993 kg.). Los individuos 238/244 se ubicaron en el segundo lugar en cuanto a peso promedio al destete, con 6.443 kg. para luego superar a todos al final del destete alcanzando el peso promedio de 20.743 kg. En la etapa del destete el peso promedio mínimo fue para los individuos con el genotipo 244/248 (4.360 kg) siendo 1.633 kg inferior al peso promedio general.

Para el final del desarrollo los individuos 238/248 alcanzaron en promedio 70.408 kg de peso, seguidos por los individuos 238/246 con 66.400 kg y los individuos 238/244 con 63.571 kg de peso mientras que los individuos 244/248 se quedaron rezagados con un peso promedio de 54.800 kg. Esta desventaja resultó insuperable para los 244/248 en todas las etapas registrando los valores promedio más bajos (Tabla 17).

Al finalizar la engorda, los individuos 232/244 registraron el mayor peso promedio con 118.000 kg, seguidos por los 238/244 con 108.286 kg., los 238/246 con 107.600 kg. y los 238/248 con 107.449 kg. de peso promedio.

Genotipo	Tabla 17. Pesos promedio por etapas para <i>IGF-2</i> (kg.)						Grasa	%
	Nacto.	Destete	Fin destete	Fin desarrollo	Fin engorda	Canal caliente	dorsal (mm)	Rendto. canal
<i>IGF-2</i> 232/238	1.515	5.708	17.833	62.417	107.000	86.750	16	81%
232/244	1.472	6.530	19.830	67.750	118.000	95.300	22	81.4%
232/248	1.633	5.718	19.555	60.182	104.636	85.709	17	81.6%
236/238	1.622	5.580	20.180	58.300	105.900	86.770	14	81.4%
238/238	1.546	6.055	19.516	60.959	106.027	86.088	16	81%
238/244	1.653	6.443	20.743	63.571	108.286	87.493	16	81%
238/246	1.727	6.220	19.820	66.400	107.600	87.780	15	81%
238/248	1.544	8.163	19.443	70.408	107.449	87.692	18	81.5%
244/248	1.188	4.360	15.520	54.800	95.400	77.140	14	81%
248/248	1.188	4.900	17.200	56.833	99.333	80.583	13	81%

En cuanto al nivel de grasa dorsal, los individuos con el genotipo (*IGF-2*) 232/244 registraron el valor promedio más alto con 22 milímetros (mm) de espesor seguidos por los individuos 238/248 con 18 mm, los 238/238 y los 238/244 registraron ambos 16 mm. Los niveles más bajos de grasa dorsal se registraron en los individuos con los genotipos (*IGF-2*) 236/238, 244/248 y 248/248, estos dos últimos grupos con un promedio de 14 y 13 mm. de espesor de grasa dorsal, respectivamente a nivel de la décima y onceava costilla. Estos F_1 con los genotipos 244/248 y 248/248 registraron los pesos más bajos en todas las etapas, pero también registraros los niveles más bajos de grasa dorsal, por otro lado el rendimiento en canal caliente fue similar al resto de los animales (81%).

Todos los genotipos de *IGF-2* mostraron un comportamiento similar en cuanto al rendimiento de la canal caliente siendo éste alrededor del 81% con respecto al peso vivo alcanzado al finalizar la engorda.

Los promedios generales de los pesos registrados así como de los días en las diferentes etapas productivas de todos los F₁ se muestran en la tabla 18.

Peso al nacto. Kg.	Días en lact.	Peso al destete Kg.	Días en destete	Peso fin destete Kg.	Días en desarrollo	Peso fin desarrollo Kg.	Días en engorda	Peso fin engorda Kg.	Peso canal caliente Kg.	Grasa dorsal mm	% Rend. en canal
1,543	22	5,930	40	19,355	61	60,495	51	106,337	86,490	16	81%

En esta tabla 18 se muestra el comportamiento general de todos los F₁ (n=190), tanto en los pesos registrados en las diferentes etapas productivas como en los días transcurridos en cada etapa, en ella no se diferenció genotipo.

En la tabla 19 se muestran los promedios generales, la moda, el valor máximo registrado, así como el valor mínimo registrado y la desviación estándar de todos los F₁.

	Peso promedio al nac. (kg)	Días en lact.	Peso al dtt (kg)	Días en destt.	Peso fin dtt (kg)	Días en desa-rollo	Peso (kg) fin desarrollo	Días en engorda	Peso fin engorda	Peso canal (kg)	Grasa dorsal (mm)	% Rend. canal
Promedios	1,543	22	5,930	40	19,355	61	60,495	51	106,337	86,490	16	81%
Moda	1,5	24	6,5	41	22	61	60	50	95	84,4	15	82%
Máximo	2	24	9,2	61	29,6	74	84	73	131	108,5	30	86%
Mínimo	1,167	19	3	33	10	53	43	37	71	58,6	5	72%
Desv. Est.	0,211	1,725	1,272	3,918	3,511	4,878	8,101	11,978	5,400	9,966	5,429	0,024

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza mediante al programa SPSS versión 12, 2005. Dicho análisis estadístico nos muestra que la mayoría de los caracteres no tuvieron diferencia significativa, a excepción de el peso al destete para RYR-1 ($P < 0.01$) y peso al nacimiento ($P < 0.01$) y peso al destete ($P < 0.05$) para IGF-2 (Tabla 20).

Tabla 20. Resultado del análisis de varianza

Carácter Productivo Gen RYR-1	Probabilidad	Nivel de significancia
Peso al nacimiento	0,3093	NS
Peso al destete	0,0110	**Altamente Significativa
Peso fin del destete	0,4551	NS
Peso fin del desarrollo	0,8922	NS
Peso fin de la engorda	0,4147	NS
Peso canal caliente	0,5198	NS
Grasa dorsal en milímetros	0,1289	NS
Carácter Productivo Gen IGF-2	Probabilidad	Nivel de significancia
Peso al nacimiento	0,0000	**Altamente Significativa
Peso al destete	0,0420	*Significativa
Peso fin del destete	0,1334	NS
Peso fin del desarrollo	0,9880	NS
Peso fin de la engorda	0,2630	NS
Peso canal caliente	0,2917	NS
Grasa dorsal en milímetros	0,1858	NS

NS= No Significativa, * Significativa (P < 0.05), ** Altamente Significativa (P < 0.01)

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

4. Discusión

El productor porcino suele seleccionar su pie de cría en base a características fenotípicas observadas en los progenitores que espera sean transmitidas a las crías. Otro factor que toma en cuenta para la toma de decisiones son los registros de producción que metódicamente se llevan a cabo en las explotaciones tecnificadas. Un tercer factor que pudiera dar certeza y control sobre las expectativas esperadas sería el hecho de conocer el genotipo, lo cual le daría capacidad de manejar los cruces con los progenitores idóneos de acuerdo a los objetivos que desea lograr. Esto por supuesto que se reflejaría positivamente en las finanzas ya que se podrían disminuir o eliminar (en algunos casos) los riesgos de presentación de trastornos como el síndrome de estrés porcino con sus correspondientes bajas por muerte y el demerito en la calidad de la carne (came PSE), así como también los efectos del gen Napole (RN) por citar algunos. Por otro lado pudiera mejorar la capacidad de controlar variables de genes con efectos benéficos probados sobre los caracteres productivos de interés económico en los cerdos.

El uso de tecnologías de vanguardia para la detección de mutaciones genéticas nos ha permitido conocer la magnitud de la presencia de los alelos afectados en la población comercial en el estado de Nuevo León, México.

4.1. Presencia de la mutación en el Gen *RYS-1*

Los resultados obtenidos en el presente estudio son similares a los obtenidos por Riojas y colaboradores. (2005) quienes reportan la presencia del alelo mutante (n) del gen *RYS-1* en el 29.9% de los animales muestreados (Riojas, et al 2005), encontrando en nuestro estudio el alelo mutante en el 25% de los animales muestreados. Nuestros resultados difieren en cuanto a la frecuencia genotípica mostrada por Vidal, el cual analizó animales de raza Landrace, en donde se observa que el alelo mutante se presentó en el 11% de los animales muestreados a pesar de que una cerda P₁ resulto afectada con la mutación (nn) (Vidal, 2001). Resultados similares a los anteriores encontramos en un trabajo publicado por Mabry y colaboradores (1998), en donde el alelo mutante (n) se observó en el 12.20% de los 3,261 animales muestreados (Mabry, et al. 1998). Así mismo difieren en el mismo sentido de los mostrados por Lee y colaboradores los cuales estudiaron animales de 4 razas puras tales como; Large White, Landrace, Duroc y Yorkshire, así como también híbridos de las razas Landrace, Yorkshire y Duroc, en este estudio se puede observar la presencia del alelo mutante en solo el 4.14% de los animales muestreados (Lee, et al. 2002). En la investigación de Dávalos en la que se incluyeron cerdos Pietrain y Large White se observa que el alelo mutante esta presente en el 62.31% de la población, esto se debió a que la totalidad de los cerdos Pietrain resultaron portadores de cuando menos un alelo mutante (n) (Dávalos, 2002).

En nuestro estudio se utilizaron P_1 híbridos de diversas razas (Yorkshire, Landrace y Pietrain). Riojas reporta que utilizó muestras sanguíneas de animales de razas cruzadas utilizadas para la producción (Riojas, et al. 2005).

Las frecuencias genotípicas y las frecuencias alélicas obtenidas en este estudio resultaron muy similares a las obtenidas por Riojas y colaboradores. La frecuencia genotípica encontrada por Riojas para NN fue de 0.70, en nuestro estudio se encontró una frecuencia genotípica de 0.75 para el mismo genotipo, en el mismo estudio antes mencionado la frecuencia genotípica para Nn fue de 0.26 y para nn fue de 0.04, en nuestro estudio Nn resultó con 0.24 y nn con 0.01.

En nuestro estudio obtuvimos las siguientes frecuencias alélicas; para el alelo N fue de 0.87 y para el alelo n fue de 0.13. En la investigación de Riojas las frecuencias alélicas resultantes fueron 0.83 para N y 0.17 para n. Lo anterior quizá se deba a que las muestras de ambos estudios proceden de granjas ubicadas en zonas rurales aledañas al área metropolitana de Monterrey, Nvo. León.

4.2. Relación de los genotipos del gen *RYR-1* con los caracteres productivos

Se confirma nuevamente que la presencia del alelo mutante (n) influye sobre la cantidad de grasa dorsal siendo los heterocigotos (Nn) y los homocigotos recesivos (nn) los que mostraron el nivel más bajo de grasa dorsal a nivel de la décima costilla (15 milímetros). Estos resultados coinciden con los de Stalder y colaboradores que señalan que los cerdos homocigotos recesivos (nn) tuvieron

menos grasa dorsal a nivel de la décima costilla (Stalder, et al. 1998). Así mismo con los de Leach y colaboradores que señalan que los portadores del alelo mutante (n) tienen ventajas sobre los homocigotos libres (NN) (Leach, et al. 1996). En el presente estudio los cerdos heterocigotos (Nn) tuvieron el mejor desempeño al destete (6.400 Kg.), al final del destete (19.928 Kg.), al final de la engorda (108.349 Kg.) y peso de la canal caliente (87.863 Kg.). Estos resultados muestran una diferencia con los resultados de Stalder que menciona que los cerdos heterocigotos (Nn) tuvieron valores intermedios entre los homocigotos afectados (nn) y los homocigotos libres (NN). Nuestros resultados coinciden con varios estudios en cuanto al hecho de que los cerdos heterocigotos (Nn) obtuvieron mayores ganancias de peso (Pommier, et al. 1992; Rempel, et al. 1995).

En nuestro estudio no consideramos aspectos sobre la calidad de la carne, por lo tanto no podemos discutir sobre tal aspecto, sin embargo no podemos pasar desapercibido el hecho de que el alelo mutante (n) del gen *RYR-1* tiene relación directa con la presentación de la carne PSE y que esta condición afecta a la industria de la carne porcina.

4.3. Presentación de los haplotipos del gen *IGF-2*

En nuestro estudio encontramos 12 diferentes genotipos para *IGF-2*, formados por 6 diferentes alelos, cuyos tamaños son los siguientes; 232, 236, 238, 244, 246 y 248 pb. Previamente Vidal (2001) había reportado la presencia de 8 alelos en un rango de 241 a 260 pb (Vidal, 2001) sin especificar el tamaño de los 8 alelos. En nuestro estudio encontramos 3 alelos de menor tamaño que

el más pequeño de los alelos reportados por Vidal (2001). En la población muestreada en esta investigación solo encontramos la presencia de 6 alelos cuyos tamaños se han mencionado anteriormente. A diferencia de otros estudios en nuestra investigación tomamos en cuenta la combinación de los diferentes alelos y la conformación de los diversos genotipos observados. Estos genotipos formados por los alelos presentados, son los siguientes; 232/238, 232/244, 232/248, 236/238, 236/248, 238/238, 238/244, 238/246, 238/248, 244/248, 246/248, 248/248.

En los estudios previos se ha demostrado la presencia de un QTL de IGF-2 con efectos sobre la grasa dorsal y el crecimiento muscular en varios cruces utilizando las razas Large white, cerdo salvaje, Pietrain, Meishan y cerdo blanco europeo (Nezer, et al. 1999; Jeon, et al. 1999; de Koning et al. 2000). Recientemente se ha identificado un QTN subyacente al efecto mayor del QTL de IGF-2 (Van Laere, et al. 2003; Jungerius, et al. 2004).

A diferencia de Van Laere y colaboradores (2003), Nezer y colaboradores (2003) y Jungerius y colaboradores (2004), que buscaron corroborar los efectos del QTL de *IGF-2* sobre la grasa dorsal y el crecimiento muscular, en el presente estudio los genotipos observados fueron asociados con el desempeño de los F₁ en las diferentes etapas productivas, así como también con el espesor de grasa dorsal, medido en milímetros, a nivel de la 10^a y 11^a costilla, con los resultados antes mencionados.

5. CONCLUSIONES

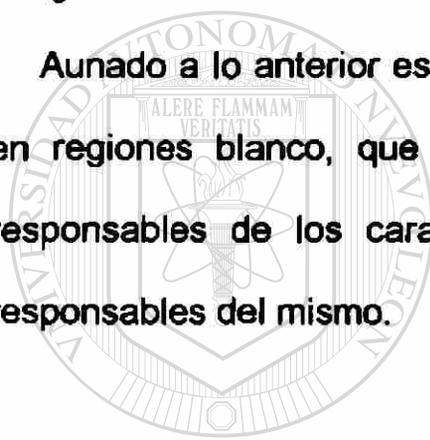
Con la información obtenida en el presente estudio se confirma la presencia del alelo mutante (n) del gen *RYR-1*, causante del Síndrome de Estrés Porcino (PSS) y de la presentación de carne Pálida, Suave y Exudativa (PSE), en la población porcina comercial de las áreas de producción aledañas a la zona metropolitana de la ciudad de Monterrey, Nuevo León, México. El alelo mutante se presentó en el 25% de los animales muestreados y previamente se había reportado en un 29.9% de la población (Riojas, et al. 2005). El énfasis puesto en la producción de cerdos musculosos y magros ha dado como resultado una reducción en las características de calidad de la carne de cerdo. Esto no significa que todos los problemas de la calidad de la carne se deriven de la presencia del alelo mutante (n) del gen *RYR-1*. Sin embargo sabemos que la eliminación de los animales portadores del alelo mutante reduciría la incidencia de carne PSE (Mabry, et al 1998).

En cuanto a *IGF-2* podemos decir que la presentación de los diferentes genotipos no garantiza el incremento de la masa muscular, ni la reducción del espesor de la grasa dorsal como sucede con los alelos *Q* y *q* de la mutación del mismo gen *IGF-2* descrita por Van Laere y colaboradores (2003), Nezer y colaboradores (2003) y Jungerius y colaboradores (2004). No obstante debemos hacer notar que de los cuatro F_1 con el genotipo 232/244, dos de ellos

registraron el valor máximo (131 kg.) al final de la engorda pero con valores altos de grasa dorsal (20 y 30 mm).

Con la utilización de los nuevos avances en genética molecular podemos definir el genotipo de los animales y aplicar programas de erradicación de genes perjudiciales, o bien, planear la adecuada utilización de los animales portadores del alelo de interés para explotar sus características o para evitar la presentación de homocigotos recesivos como sería el caso del alelo mutante del gen *R_{YR}-1*.

Aunado a lo anterior es necesario continuar investigando genes candidatos en regiones blanco, que prometan una posible asociación con los genes responsables de los caracteres productivos, y/o la posibilidad de ser los responsables del mismo.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

REFERENCIAS

Albets B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. and Walter P. 2002. *Molecular Biology of The Cell*. 4^a Ed. Garland Science New York, USA.

Amarger V., Nguyen M., Van Laere A. S., Braunschweig M., Nezer C., Georges M., Andersson L. 2002. Comparative sequence analysis of the INS-IGF2-H19 gene cluster in pigs. *Mamm Genome* 13(7):388-398.

Andersson-Eklund L., Marklund L., Lundström K., Haley C. S., Andersson K., Hansson I., Moller M., Andersson L. 1998. Mapping Quantitative Trait Loci for Carcass and Meat Quality Traits in a Wild Boar x Large White Intercross. *J. Anim. Sci.* 76: 694-700.

Archibald AL., Haley CS. Brown F., Couperwhite S., McQueen HA., Nicholson D., Coppieters W., Van de Weghe A., Stratil A., Wintero AK., Fredholm M., Larsen NJ., Nielsen VH., Milan D., Woloszyn N., Robic A., Dalens M., Riquet J., Gellin J., Caritez J-C., Burgaud G., Ollivier L., Bidanel J-P., Vaiman M., Renard C., Geldermann H., Davoli R., RuNter D., Verstege EJM., Groenen MAM., Davies W., Hoyheint B., Keiserud A., Andersson L., Ellegren H., Johansson M., Marklund L., Miller JR., Anderson Dear DV., Signer E., Jeffreys, AJ., Moran C., Le Tissier P., Muladno., Rothchild MF., Tuggle CK., Vaske D., Helm J., Liu H-C., Rahman A., Yu T-P., Larson RG., Schmitz CB. 1995. The PiGMaP Consortium linkage map of the domestic pig (*Sus scrofa domestica*). *Mamm Genome* 6, 157-175.

Astbury, W. T., *Syp. Soc. Exp. Biol.* 1, *Nucleic Acid*, 66. Camb. Univ. Press.

Avery, O. T., MacLeod, C. M., and McCarty, M. 1944. Study on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *F. Exp. Med.* 79:137-58. (Reimprinted in Taylor, J. H. 1965. *Selected papers in molecular genetics*. Orlando, FL: Academic Press.)

Baker. J., Liu J. P., Robertson E. J. and Efstratiadis A. 1993. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell* 75; 73-82.

Ball S., Reeve M. A., Robinson P. S., Hill F., Brown D. M., Loakes D. 1998. The use of tailed octamer primer for cycle sequencing. *Nucl. Acids Res.* 26, 5225-5227.

Barton Gade P. A. 1997. In: *Manipulation pig production VI*. Ed. P. D. Cranwell. Australasian Pig Sci. Assoc. 100-123.

Berruecos J. M. 1972. *Mejoramiento Genético del Cerdo 1ª edición*. pp. 4, 19, 33, 154. Editorial Arana, S. C. L.

Bonelli A. M. y Schifferli C. 2001. Síndrome de Estrés Porcino. *Arch. Med. Vet.* Vol 33 n.2 Valdivi 2001. (en línea) consultado el 30-03-06. Disponible en: http://scielo-test.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2001000200001&lng=en&nrm=iso

Cameron ND 1990. Genetic and phenotypic parameters for carcass trait, meta and eating quality trait in pigs. *Lives Prod Sci* 26, 119-135.

Casas-Carrillo E., Prill-Adams A., Price Susan G., Cluter Archie C., Kirpatrick Brian W. 1997. Mapping genomic regions associated with growth rate in pigs. *J. Anim. Sci.* 75: 2047-2053.

CEA/SAGAR, 2000. Centro de estadística agropecuaria. Delegación SAGAR.

Chargaff E. 1950. Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymic degradation. *Experientia* 6:201-209.

Charley Helen. 1991. *Tecnología de los alimentos*. pp. 319; 330, 520. Editorial LIMUSA S. A. de C. V. México D. F.

Christian L. L. 1974. Halothane test for PSS-field application. In: *Proc. American Assoc. of Swinw Prac. Conf.* (Des Moines, Iowa) pp. 6-13.

Christian, L. L. 1972. A review of the role of genetics in animal estress susceptibility and meat quality. *Proceedings of the quality symposium, Wisconsin University, Madison* 91-115.

Concellón Martínez A. 1978. *Porcicultura 1. Razas, Reproducción, Selección y Construcciones*. 4ª edición. Editorial AEDOS. Barcelona España. pp. 55, 56.

Constancia, M., Hemberger, M., Huges, J., Dean, W., Ferguson-Smith, A., Fundele, R., Stewart, F., Kelsey, G., Fowden, A., Sibley, C. & Reik, W. 2002. Placental-specific IGF-2 is a major modulator of placental and fetal growth. *Nature* 417:945-948.

Consumer, 2003. Carne de cerdo. (en línea) Consultado el 02 -04-2003.

Disponible en:

http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/aprender_a_comer_bien/guia_alimentos/carnes_huevos_y_derivados/2001/04/10/35016.php

Dávalos-Aranda G. 2002. Detección de QTLs de importancia económica y análisis de genes candidatos en poblaciones comerciales españolas. Tesis doctoral. Bellaterra (Barcelona) España.

Davies Karen, Bowden Lucy, Smith Paul, Dean Wendy, Hill David, Furuumi Hiroyasu, Sasaki Hiroyuki, Cattanach Bruce and Reik Wolf. 2002. Disruption of mesodermal enhancers for *IGF2* in the minute mutant. *Development* 129, 1657-1668.

De Koning D. J., Rattink A. P., Harlizius B., van Arendonk J. A. M., Brascamp E. W., Groenen M. A. M. 2000. Genome-wide scan for body composition in pigs reveals important role of imprinting. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 97, 7947-7950.

De Robertis E. D. P. y De Robertis Jr E. M. F. 1992. Fundamentos de Biología Celular y Molecular, 2ª Edición. Reimpresión. Pág. 296-298. Editorial "El Ateneo".

De Voi Dl., McKeith F. K., Bechtel P. J., Novakoski J., Shanks R. D., Carr T. R. 1988. Variation in composition and palatability trait and relationships between muscle characteristics and palatability in a random sample of pork carcasses. *J Anim Sci* 66, 385-395.

De Vries A. G., Faucitano L., Sosnicki A. A., & Plastow. 1999. The use of gene technology for optimal development of pork meat quality. International Symposium "New developments in guaranteeing the optimal sensory quality of meat". Madrid, May 5-7 1999, Session 2.

DeChaira Thomas M., Efstratiadis A., & Robetson Elizabeth J. 1990. A growth-deficiency phenotype in heterozygous mice carrying an insuline-like growth factor II gene disrupted by targeting. *Nature*, 35: 79-80.

Delgado, C., Rosegrant, M., Steinfeld, H., Ehui, S. y Courbois, C. 1999. Livestock to 2020. The next food revolution. IFPRI/ILRI/FAO, Roma, Italia.

Desarrollo porcicola 1998. Sep.-Oct., Nº 48.

Devlin Thomas M. 2000. Bioquímica 3ª Ed. Editorial Reverté, S. A. Barcelona España.

Eden, S., Constancia, M., Hashimshony, T., Dean, W., Goldstein, B., Johnson, A. C., Keshet, I., Reik, W., Cedar, H. 2001. An upstream repressor elements plays a role in IGF-2 imprinting. *EMBO J.* 20, 3518-3525.

Eikelenboom, G; Minkema, D. 1974. Prediction of plate, soft, exudative muscle with a non-lethal test for the halothane-induced porcine malignant hyperthermia syndrome. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 99,421-426.

Ellis, M., Brewer, M. S., Sutton, D. S., Lan, H. Y., Johnson, R. C. and McKeith, F. K. 1998. Aging and cooking effects on sensory traits of pork from pigs of different breed lines. *J. Muscle Foods*, 3 (9), 281.

Escamilla-Arce L. 1981. El cerdo, su cría y explotación. Compañía Editorial Continental S. A. México D. F. pp. 9, 45

Essen-Gustavsson, B., Karlstrom, K. and Lundstrom, K. 1992. Muscle fibre characteristics and metabolic response at slaughter in pigs of different halothane genotypes and their relation to meat quality. *Meat Sci.*, 31, 1.

FAO 2005. Centro Mundial de Información Agraria de la FAO (WAICENT) (en línea) Última información accesible febrero 2005 consultado el 20 Feb 2006.

Disponible en:

<http://faostat.fao.org/faostat/form?collection=Production.Livestock.Stocks&Domain=Production&servlet=1&hasbulk=0&version=ext&language=ES>

FAO/SMIA 2000, Perspectivas alimentarias 2000. Noticias de los mercados de la carne vacuna, coordinación mercados ganaderos. SAGARPA. 2000.

FAO/SMIA 2002. Perspectivas alimentarias 2002. Noticias de los mercados de la carne vacuna, coordinación mercados ganaderos. SAGARPA. 2002.

FIRA. 1997. Fideicomisos instituidos en relación con la agricultura en el banco de México. 1997. Oportunidades de desarrollo de la porcicultura en México. Boletín informativo. No 296. Vol. XXIX. Morelia, Michoacán. Julio 1997.

Franklin R. E. and Gosling R. G. 1953. Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature* 171-41.

Fujii, J., Otsu, K., Zorzato, F., de Leon, S., Khanna, V. K., Weiler, J. E., O'Brien, P. J., and MacLennan, D. H. 1991. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*. 253, 448-51.

García Sacristán A., Castejón Montijano F., de la Cruz Palomino L. F., González Gallego J., Murillo L. de Silanes M. D., Salido Ruiz G. 1995. Fisiología Veterinaria. McGraw-Hill-Interamericana de España. Madrid, España. p. 52

Gardner Eldon J. 1991. Principios de Genética 5ª edición. Editorial Limusa S. A. de C. V. México D. F.

Gil F., López-Albors., Vázquez J. Ma., Latorre R., Ramírez-Zarzosa., Moreno F. 2001. The histochemical profiles of fibre types in porcine skeletal muscle. *Histol istopathol.* 16:439-442.

Goodwin R. N. 1994. Genetic parameters of pork quality traits. Ph.D. Thesis. Iowa State University, Ames.

Griffiths Anthony J. F., Gelbart William M., Miller Jeffrey H., Lewontin Richard C. 2000. *Genética Moderna*. McGraw-Hill-Interamericana, España, S. A. U.
Grindflek Eli, Szyda Joanna, Liu Zengting, Lien Sigbjorn. 2001. Detection of quantitative trait loci for meat quality in a commercial slaughter pig cross. *Mammalian Genome* 12, 299-304.

Guerrero Legarreta I. y Arteaga Martínez M. R. 1990. *Tecnología de Carnes. Elaboración y preservación de productos cárnicos.* p. 17. Editorial Trillas S. A. de C. V.

Hardin S. H., Jones L. B., Homayoun R., McCollum J. C. 1996. Octamer-primed cycle sequencing: design of an optimized primer library. *Genome Res.* 6, 545-550

Hershey, A. D., and Chase, M. 1952. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J.Gen.Physiol.* 36:39-56.

Holley, Robert W. "The nucleotide sequence of a nucleic acid." *Sci Am.*, 214(2): 30-39 (1996).

Jungerius B. J., Van Laere A. S., Marinus F. W., Te Pas, Bernard A., Oost Van, Andersson L. and Groene M. A. M. 2004. The IGF2 –intron3-G3072A substitution explains a major imprinted QTL effect on backfat thickness in Meishan X European white pig intercross. *Genet. Res., Camb.* 84, 95-101.

Infocarne 2005. (en línea) Consultado el 02-04-2005 Disponible en: www.infocarne.com/cerdo/razas_cerdo.asp

ITIS/USDA, 2005. Departamento de Agricultura de Estados Unidos (en línea) consultado el 02 de Abril 2005. Disponible en: www.itis.usda.gov/servlet/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=

Jackson D., Symons R. and Berg Paul. 1972. Biochemical method for inserting new genetic information into DNA of simian virus 40: Circular SV40 DNA molecules containing lambda phage and the galactose operon of E. coli. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 69:2904-2909.

Jeon Jin-Tae., Carlborg Ö., Törnsten A., Giuffra E., Amarger., Chardon P., Andersson-Eklund L., Andersson K., Hansson I., Lundström K. and Andersson L. 1999. A paternally expressed QTL affecting skeletal and cardiac muscle mass in pigs maps to the IGF2 locus. *Nat. Genet.* 21:157-158.

Jones JI and Clemmons DR. 1995. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocrine Reviews* 16, 3-34.

Kenyalogy 2005. (en línea) Consultado el 02 de Abril de 2005. Disponible en: <http://www.kenyalogy.com/esp/fauna/taxonman.html>

Klug W. S., Cummings M. R. 1999. Conceptos de Genética, 5ª edición. Prentice Hall Iberia, Madrid, España.

Kono T., Obata Y., Wu Q., Niwa K., Ono Y., Yamamoto Y., Park E. S., Seo J-S & Ogawa H. 2004. Birth of parthenogenetic mice that can develop to adulthood. *Nature* Vol. 428, 860-864.

Leach, L. M.; Ellis, M.; Sutton, D. S.; McKeith, F. K.; Wilson, E. R. 1996. The growth performance, carcass characteristics, and meat quality of halothane carrier and negative pigs. *J Animal Sci.* May; 74(5):934-943.

Lee S. H., Cho K. K., Kang S. K., Kim C. W., Park H. C., Choy Y. H. and Choi Y. J. 2002. Detection of pigs resistant to post-weaning diarrhea, o edema disease and porcine stress syndrome by allele-specific polymerase chain reaction *Animal Genetic* Vol. 33, 3:273.

Lefaucher L. 2001. Myofiber typing and pig meat production. *Slov Vet Res.* 38 (1): 5-28.

Lehninger, A. L., Nelson, D. L., Cox, Michael M. Principios de Bioquímica 2ª edición 1993. Pág. 817, 819, 820. Ediciones Omega.

Lopes S., Lewis A., Hajkopa P., Oswald J., Fome T., Murrell A., Constanica M., Bartolomei M., Walter J., Reik W. 2003. Epigenetic modifications in an imprinting cluster are controlled by a hierarchy of DMRs suggesting long-range chromatin interactions. *Hum Mol Genet*, 12(3):295-305.

Mabry J. W., Bass T. J., Miller R. K. 1998. The Impact of Genetics on Pork Quality (Revised). National Pork Boar.

MacLennan, D. H. 1992. The genetics basis of malignant hyperthermia. *Trends Pharmacology Science*, 13 (8): 329-334.

MacLennan, D.H., Duff, C., Zorzato, F., Fujii, J., Phillips, M., Korneluk, R.G., Frodis, W., Britt, B.A. and Worton, R.G. 1990 Ryanodine receptor gene is a candidate for predisposition to malignant hyperthermia. *Nature* 343(6258):559-61.

Malek M., Dekkers J. C. M., Lee Hakkyo K., Bass Thomas J., Rothschild Max F. 2001a. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal regions influencing economic traits in the pig. I. Growth and body composition. *Mammalian Genome* 12, 630-636.

Malek M., Dekkers J. C. M., Lee H. K., Bass T. J., Prusa K., Huff-Lonergan E., Rothschild M. F. 2001b. A molecular genome scan analysis to identify chromosomal region influencing economic traits in the pig. II. Meat and muscle composition. *Mammalian Genome* 12, 637-645.

Marklund L., Johansson Moller M., Hoyheim B., Davies W., Fredholm M., Juneja RK., Mariani P., Coppieters W., Ellegren H., Andersson L. 1996. A comprehensive linkage map of the pig based on wild pig-Large White intercross. *Anim Genet* 27, 255-269.

McLaughlin K J., Kochanowski H., Solter D., Schwarzkopf G., Szabo P. E. and Mann J. R. 1997. Roles of the imprinted gene IGF-2 and paternal duplication of distal chromosome 7 in the perinatal abnormalities of androgenetic mouse chimeras. *Development* 124, 4897-4904.

Merck, Manual de Veterinaria 2000. 5ª edición. Océano Grupo Editorial, S. A. Barcelona, España.

Monnier N., Lunardi J. 2000. Biology of malignant hyperthermia: a disease of the calcium channel of the skeletal muscle. *Ann Biol. Clin Paris*. Mar- Abr; 58 (2):147-56

Morrison I. M., Eccles M. R., Reeve A. E. 2000. Imprinting of insulin-like growth factor 2 is modulated during hematopoiesis. *Blood*. Vol. 96, 9: 3023-3028.

Mullis K., and Faloona F., 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. *Metb. Enzymol*, 55: 335-350.

Mullis K., Faloona F., Scharf S., Saiki R., Horn G., and Erlich H. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The Polymerase Chain reaction. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 51, 263-273.

Muños-Marotta-Lagrecá-Rouco. 1998. Porcinotecnia práctica y rentable. Grupo Luzán 5, S. A. Madrid, España. pp. 8 -10.

Nezer C., Collete C., Moreau L., Brouwers B., Kim Jong-Joo., Giuffra E., Buys N., Andersson L. and Georges M. 2003. Haplotype Sharing Refines the Location of an Imprinted Quantitative Trait Locus With Major Effect on Muscle Mass to a 250-kb Chromosome Segment Containing the Porcine IGF-2 Gene. *Genetics*, 165: 277-285.

Nezer Carine, Moreau L., Brouwers B., Coppieters J. D., Hanset R., Karim L., Kvasz A., Leroy P. and Georges M. 1999. An imprinted QTL with major effect on muscle mass and fat deposition maps to the IGF-2 locus in pig. *Nat. Genet.* 21: 155-156.

Nirenberg M. W. and Matthaei J. H. 1961. The dependence of cell-free protein synthesis in *E. coli* upon naturally occurring or synthetic polyribonucleotides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 47, 1588-1602.

Noguera, J. L.; Piedrafita, J. 1992. Aspectos genéticos del síndrome de estrés porcino. *Porci*, 7:25-38.

Nowak, R. M. 1991. *Walker's Mammals of the World*. Fifth Edition. Johns Hopkins University Press, Baltimore.

O'Brien P. J. 1995. The causative mutation for porcine stress syndrome. *Food Animal*. 257-269.

O'Brien P. J., Sheen H., Cory C. R., Zhang X. 1993. Use of a DNA-based test for the mutation associated with porcine stress syndrome (malignant hyperthermia) in 10,000 breeding swine. *Journal American Veterinary Medical Association*. 203 (6):842-851.

Ormel Peter W. 2002. América Latina y el Caribe en el contexto mundial de los productos de origen animal: Carne porcina. FAO/RLC. (en línea) consultado el 29 Marzo 2005. Disponible en: <http://www.rlc.fao/prior/segalim/pdf/porcina.pdf>
E-mail peter.ormel@fao.org

Otsu, Kinya., Khanna. Vijay K., Archibald, Alan L., McLennan David H. 1991. Cosegregation of Porcine Malignant Hyperthermia and a probable causal mutation in the skeletal muscle ryanodine receptor gene in backcross families. *Genomic.*, 11:744-750.

Pérez-Enciso M., Clop A., Noguera J. L., Ólivo C., Coll A., Folch J. M., Babot D., Estany J., Oliver M. A., Díaz I., Sánchez A. 2000. *J. Anim. Sci.* 78: 2525-2531.

PIC 2005. (en línea). Impacto de las variables que determinan el desarrollo magro del cerdo. (Primera parte) Consultado el 18-Feb.-2005. Disponible en: http://www.engormix.com/impacto_variables_determinan_desarrollo_s_articulos_122_POR.htm

Pommier S. A., Houde A., Rousseau F., Savoie Y. 1992. The effect of the malignant hyperthermia genotype as determined by restriction endonuclease assay on carcass characteristics of commercial crossbred pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 72:973-976.

- Popesko P. 1998. Atlas de anatomía topográfica de los animales domésticos. Tomo II, 2ª edición. Editorial Masson S. A. Barcelona España.
- Rattink A. P., De Koning D. J., Faivre M., Harlizius B., Van Arendonk J. A. M., Groenen M. A. M. 2000. Fine mapping and imprinting analysis for fatness trait QTLs in pigs. *Mammalian Genome* 11. 656-661.
- Reik, W. & Walter, I. 2001. Genomic imprinting parental influence on the genome. *Nature Rev. Genet.* 2, 21-32.
- Rempel W. E., Lu M. Y., Mickelson J. R., Louis C. F. 1995. The effect of skeletal muscle ryanodine receptor genotype on pig performance and carcass quality traits. *Animal Science*, 60:249-257.
- Riojas Valdés V. M., Canales Zambrano J. C., Gómez de la Fuente J. C., Dávalos Aranda G., Hernández Vidal G., Salinas Meléndez J. A. 2005. Frecuencia alélica del síndrome de estrés porcino en Nuevo León, mediante análisis PCR-RFLP. *Vet. Méx.*, 36 (3) 261-267.
- Roher G. A., Keele J. W. 1998. Identification of Quantitative Trait Loci Affecting Carcass Composition in Swine: II. Muscling and Wholesale Product Yield Trait. *J. Anim. Sci.* 76: 2255- 2262.
- Roher GA., Alexander LJ., Hu Z., Smith TP., Keele JW., Beattie CW. 1996. A comprehensive map of the porcine genome. *Genome Res* 6, 371-391.
- Roppa L. 2002. Los porcicultores y su entorno. *Mitos y verdades sobre la carne de cerdo*. Año 5, N° 29, Sep.-Oct. 2002. pp. 38-44.
- Rothschild M. F., Ciobanu D., Lonergan S., Dekkers J and Stalder K. 2003. Identification of Genes for Carcass Merit and Meat Quality in the Pig. (en línea) Consultado el 30-03-06. Disponible en: <http://www.nsif.com/Conferences/2003/pdf/Genelidentification.pdf>
- Ruvinsky A. 1999. Basic of gametic imprinting. *J. Anim. Sci.* Vol. 77, Suppl. 2/J. Dairy Sci. Vol. 82, Suppl. 2/1999. 228-237.
- Sagamaga V. M., Salas G. J. M., Mariscal A. V., Estrella Q. H., Ruiz F. A., González A. M., Juárez Z. A. 2003. Impacto del TLCAN en la cadena de valor porcina. Chapingo, México. pp. 8, 24-25.
- SAGARPA 2002. Ficha técnica No 7. Análisis y perspectivas del mercado internacional de ganado porcino, Noviembre 2002.

SAGARPA 2004. Programa Nacional Pecuario 2004. Coordinación General de Ganadería. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Servicio Nacional de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera.

SAGARPA, 2003. Sistema de información y estadística agroalimentaria y pesquera (SIAP), SAGARPA. (en línea) Consultado el 09 de Dic. 2003. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/propor9601.htm>

SAGARPA, 2006. Sistema de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), (en línea). Última actualización: 01/02/06. Consultado el 09-Feb.-06. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/prod0001.htm>

Saiki R. K., Scharf S. J., Faloona F., Mullis K. B., Horn G. T., Erlich H. A. and Arnheim N. 1985. Enzymatic amplification of B-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230, 1350-1354.

Sanchez, B. A., Folch, J., Coll, A. 1993. Optimización del análisis molecular para la detección del síndrome del estrés porcino. *ITEA* 12, 257-259.

Sanger F., Nicklen S., Coulson A. R. 1977. DNA Sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 74, 5463-5467.

Sellier, P. and Monin, G. 1994. Genetics of pig meat quality: a review. *J. Muscle Foods*, 5, 187-219.

Simmen FA, Simmen RCM, Geisert RD, Marina-Botte F, Bazer FW & Terqui M. 1992. Differential expression, during the estrous cycle and pre- and postimplantation conceptus development, of messenger ribonucleic acids encoding components of the pig uterine insulin-like growth factor system. *Endocrinology* 130 1547-1556.

Srivastava M., Hsieh S., Grinberg A., Williams-Simons L., Huang Sing-Ping., and Pfeifer K. 2000. *H19* and *Igf2* monoallelic expression is regulated in two distinct ways by a shared *cis* acting regulatory region upstream of *H19*. *GENES & DEVELOPMENT* 14:1186-1195. (en línea) Consultado el 16-03-06.

Disponible en:

<http://www.genesdev.org/cgi/content/full/14/10/1186?ijkey=16a1fb5b6be37eba8f490600b3ffb8366c9ddb0b>.

Stalter K., Maya J., Christian L., Moeller S., Prusa K. 1998. Effects of preslaughter management on the quality of carcasses from porcine stress syndrome heterozygous market hogs. *J Anim. Sci.* 76:2435-2443.

Sterle J. A., Boyd C. K., Peacock J. T., Koenigsfeld A. T., Lamberson W. R., Gerrard D. E. and Lucy M. C. 1998. Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II, IGF-binding protein-2 and pregnancy-associated glycoprotein mRNA in pigs with somatotropin-enhanced fetal growth. *Journal of Endocrinology* 159, 441-450.

Thompson J. E. 1999. *Cerdo. Elementos de tecnología de alimentos* 14ª edición. Editor, Desrosier N. W. Editorial CSCSA, México D. F.

Tibau, J.; Soler, J. 1999. Selección porcina y eficiencia productiva. *Mundo Ganadero*, No 116.

Tilghman, S. M. 1999. The sins of the fathers and mothers: genomic imprinting in mammalian development. *Cell* 96, 185-193.

Topel D. G., Bicknell E. J., Preston K. S., Christian L. L. and Matsushima C. Y. 1968. Porcine Stress Syndrome, *Mod. Vet. Prac.* 49:40.

Tor, M.; Villalba, D.; Cubiló, M.D.; Molina, E.; Vilaró, F. 1 y Estany, J. 2001. Aplicación de la espectrometría de masas de ionización por electrospray al análisis simultáneo de insulina e IGF-2. (en línea) Consultado el 23-03-05. Disponible en:

<http://www.dcam.upv.es/acteon/CONGRESOS/Aida2001/docs/AIDA20013Pv2.PDF#search=>

Van Laere Anne-Sophie, Nguyen M., Braunschweig M., Nezer C., Collette C., Moreau L., Archibald Alan L., Haley Chris S., Buys N., Tally M., Andersson G., Georges M. and Andersson L. 2003. A regulatory mutation in IGF-2 causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature* 425: 832-836.

Varona L., Sánchez A., Rodríguez M C., Clop A., Ovilo C., Coll A., Barragán C., Oliver M A., Babot D., Diaz I., Toro M A., Folch J M., Pérez-Enciso M., Silió L., Noguera J L., 2001. Análisis de *imprinting* en caracteres de calidad de canal, carne y ácidos grasos en un cruce f2 ibérico x landrace. *ITEA* 22: 115-117.

Vidal Oriol I Fábrega. 2001. Estudi de la variabilitat genética d'una població comercial de langrace i la seva associació amb caràcters productius. Tesis doctoral. Bellaterra, Barcelona, España

Watson J. D., Crick F. H. C. 1953a. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* Vol. 171, No. 4356, pp. 737-38.

Watson J. D., Crick F. H. C. 1953b. Genetical implication of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature* 171, 964-967.

Watson James D., Gilman Michael., Witkowski Jan., Zoller Mark. 1992. *Recombinant DNA* 2a edición. Pág. 64. Scientific American Books.

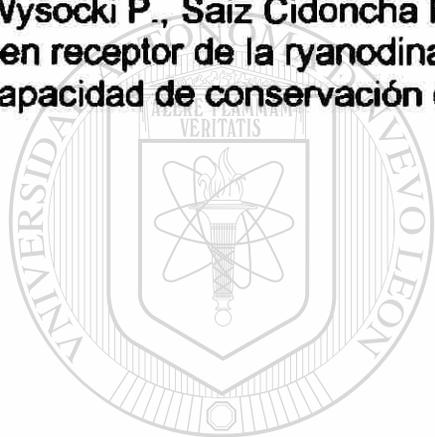
Weaver S. A., Dixon W. T., Schaefer A. L. 2000. The effects of mutated skeletal ryanodine receptors on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in boars. *J. Anim Sci.* 78(5):1319-30.

Wendt M, Bickhardt K, Herzog A, Fischer A, Martens H, Richter T. 2000. Porcine stress syndrome and PSE meat: clinical symptoms, pathogenesis, etiology and animal rights aspects *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* May; 113(5):173-90

Whittemore C. T. Elsey F. W. H. 1978. Alimentación practica del cerdo. Traducción de Barberán Roda Manuel. Revisión y Adaptación, Concellón Martínez Antonio. Editorial AEDOS. Barcelona España. pp. 11, 19.

Womack, James E. Molecular arrives on the farm. 1992. *Nature*, 360:108-109.

Wysocki P., Saiz Cidoncha F., Strzezek J. 1998. Influencia de la mutación del gen receptor de la ryanodina (Ryr-1) en verraco sobre la calidad del semen y su capacidad de conservación en estado líquido. *ANAPORC.* 182: 144-154.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ANEXO Listado de países por región

Africa					
Alegria	Angola	Benin	Botswana	Tr Br Oc Ind	Burkina Faso
Burundi	Camerún	Cape Verde	Rp Afr Cent	Chad	Comoras
Congo, Rp Dem	Congo, Rp	Costa Marfil	Jibuti	Egipto	Guinea Eq
Eritrea	Etiopia	Etiopia Pdr	Gabón	Gambia	Ghana
Guinea	Guinea-Bissau	Kenya	Lesotho	Liberia	Libia
Madagascar	Malawi	Mali	Mauretania	Mauricio	Mayotte
Marruecos	Mozambique	Namibia	Niger	Nigeria	Reunión
Rwanda	Sao Tome Pm	Senegal	Seychelles	Sierra Leone	Somalia
Africa del Sur	Sta. Helena	Sudán	Swazilandia	Tanzania	Togo
Túnez	Uganda	Sahara Occ.	Zambia	Zimbabwe	

Asia					
Afganistán	Armenia	Azerbaiyan	Bahrein	Bangladesh	Butan
Brunei Darsm	CHINA	Camboya	China, h.kong	Chipre	Timor orient
Palestina	Georgia	India	Indonesia	Irán	Iraq
Israel	Japón	Jordán	Kazajstan	Rp Corea D P	Rp Corea
Kuwait	Kirguistan	Laos	Libano	Macao	Malasia
Maldívas	Mongolia	Myanmar	Nepal	Omán	Pakistán
Filipinas	Qatar	Arabia Saud.	Singapur	Sri Lanka	Siria
Tayikistán	Tailandia	Turquia	Turkmenistán	Em Arab Un	Uzbekistan
Vietnam	Yemen				

Europa					
Albania	Andorra	Austria	Bel-lux	Belarus	Bélgica
Bosnia Herc	Bulgaria	Is Anglo-Norm.	Croacia	Rp Chec.	Checoslov.
Dinamarca	Estonia	Is Faeroe	Finlandia	Francia	Alemania
Gibraltar	Grecia	Santa Sede	Hungria	Islandia	Irlanda
Is de Man	Italia	Letonia	Liechtenstein	Lituana	Luxemburgo
Macedonia	Malta	Moldavia Rp	Mónaco	Países Bajos	Noruega
Polonia	Portugal	Rumania	Fed Rusa	San Marino	Eslovaquia
Eslovenia	España	Is Svalbard	Suecia	Suiza	UK
Ucrania	Yugoslavia Sfr	Yugoslavia			

LAC					
Anguila	Antigua Barb	Argentina	Aruba	Bahamas	Barbados
Belice	Bolivia	Is Vírgenes GB	Brasil	Islas Caimán	Chile
Colombia	Costa Rica	Cuba	Dominica	Rep Dominica	Ecuador
El Salvador	Islas Malvinas	Guyana Fran	Granada	Guadalupe	Guatemala
Guyana	Haiti	Honduras	Jamaica	Martinica	México
Montserrat	Antillas Hol.	Nicaragua	Panamá	Paraguay	Perú
Puerto Rico	Georgia sur	Sn Crist Nieves	Sta. Lucia	San Vicente	Suriname
Trinidad Tob	Islas Turc Caic	Is Vírgenes USA	Uruguay	Venezuela	

Norteamérica				
Canadá	USA	Bermuda	Groenlandia	Sn Pier Mq

Oceania					
Samoa Amer	Australia	Is de Canton	Is Christmas	Is Cocos	Is Cook
Fiji Islands	Fr Polinesia	Guam	Is Johnston	Kiribati	Is Marshall
Micronesia	Is Midway	N Marianas	Nauru	N. Zelandia	N. Caledonia
Is Niue	Is Norfolk	Is Pacifica	Palau	Papua N Guin	Is Pitcairn
Samoa	Is Salomon	Tokelau	Tonga	Tuvalu	Is Minor USA
Vanuatu	Is Wake	Is Wallis Fut			

Caribe				
Anguila	Antigua Barb	Aruba	Bahamas	Barbados
Belice	Is Virgenes GB	Islas Caimán	Dominica	Guyana Fran
Granada	Guadalupe	Guyana	Jamaica	Martinica
Montserrat	Antillas Hol.	Puerto Rico	Sn Crist. Nieves	Sta. Lucia
Sn Vicente	Surinam	Trinidad Tob	Is Turcas Caic	Is Virgenes USA

América Central				
Cuba	Costa Rica	El Salvador	Guatemala	Honduras
Nicaragua	Panamá	Rep Dominicana	Haití	

Paises Andinos				
Bolivia	Colombia	Ecuador	Perú	Venezuela

Cono Sur				
Argentina	Chile	Paraguay	Uruguay	



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Rubén Maldonado Mena

Candidato para el Grado de

Maestro en Ciencias Veterinarias con especialidad en Producción Animal

Tesis: ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE LOS GENES RECEPTOR DE RIANODINA (RYR-1) E INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-2 (IGF-2) CON CARACTERES PRODUCTIVOS EN UNA POBLACIÓN PORCINA DE TIPO COMERCIAL EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN, MÉXICO.

Campo de estudio: Producción Animal

Biografía.

Datos Personales: Nacido en Ciudad Juárez, Chihuahua el 14 de Junio de 1957, hijo de Rubén Maldonado Vega y Clementina Mena Murillo.

Educación. Egresado de la Universidad Autónoma de Tamaulipas, grado obtenido Médico Veterinario Zootecnista en 1980.

Experiencia Profesional.

Institución: Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH) en el Estado de Guerrero. Extensionista.

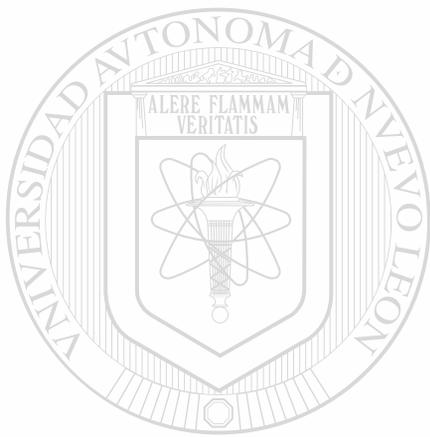
Periodo: de Agosto de 1980 a Diciembre de 1982.

Institución: Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria, Profesor de Tiempo Completo.

Periodo: de Febrero de 1984 a la Fecha.

Institución: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Maestro por Horas.

Periodo: Enero 2005 a la fecha.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



