

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS



Estimación de la diversidad genética mediante marcadores SNP en bovino Criollo Coreño (*Bos taurus*)

TRABAJO DE TITULACIÓN EN LA MODALIDAD DE
TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A

CLAUDIA PATRICIA MARTINEZ RUIZ

DIRECTOR

Ph.D GUILLERMO MARTÍNEZ VELAZQUEZ

ASESOR

DR. ALFONSO ENRIQUE ISLAS RODRIGUEZ

JULIO, 2015

≈ | ≈



Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
Coordinación de Carrera de la Licenciatura en Biología

C. CLAUDIA PATRICIA MARTÍNEZ RUIZ.
PRESENTE

Manifiestamos a usted, que con esta fecha, ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de **TESIS E INFORMES** opción **TESIS** con el título: "**Estimación de la diversidad genética mediante marcadores SNP en Bovino Criollo Coreño (*Bos Taurus*)**", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos, que ha sido aceptado como director de dicho trabajo a: **Dr. Guillermo Martínez Velázquez** y como asesor a: **Dr. Alfonso Enrique Islas Rodríguez**.

Sin más por el momento, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 24 de febrero de 2015


DRA. GEORGINA ADRIANA QUIROZ ROCHA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN




DRA. CLAUDIA AURORA URIBE MÚ.
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Las Agujas, Zapopan, Jalisco, México. C.P. 45110. AP 39-82. Tels. (01-33) 3777- 1168 3777-1150, ext. 33118.

FORMA F

Dra. Georgina Adriana Quiroz Rocha.
 Presidente del Comité de Titulación.
 Licenciatura en Biología.
 CUCBA.
 Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad **Tesis e informes**, opción **Tesis** con el título: "**Estimación de la diversidad genética mediante marcadores SNP en bovino Criollo Coreño (Bos taurus)**" que realizó la pasante **Claudia Patricia Martínez Ruiz** con número de código **208449376** consideramos que ha quedado debidamente concluido por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente



Ph.D Guillermo Martinez Velázquez
 Director



Dr. Alfonso Enrique Islas Rodriguez
 Asesor interno

Nombre completo de los miembros asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobación	Fecha de aprobación
Dra. Luz Patricia Castro Féliz		12/06/2015
Dra. Anne M. H. Santerre		12/06/2015
Dra. Alma Rosa Villalobos		29/05/2015
Dr. Alfonso E. Islas Rodriguez		15/06/2015

COMITE DE
 TITULACION




15/06/15

AGRADECIMIENTOS

Primeramente quiero agradecer a mi familia por siempre estar ahí apoyándome en absolutamente todos los momentos y darme las alas para volar tan alto como yo quiera. Mami gracias por ser el mejor ejemplo de mujer y madre que existe, apoyándome desde el primer día que me dejaste en Guadalajara para seguir mis sueños y mi pasión. A mi papá por ser el que siempre me hace reír y me aconseja a tomar el mejor rumbo, te admiro mucho y te agradezco por siempre creer en mí. A mi hermano Memo que es el apoyo incondicional en todos los aspectos, gracias por demostrarme que todo se puede superar y que seremos cómplices eternos en nuestra estancia en este mundo. A mi abuelita Rosario y tíos Cesar, Jorge, Mimi y Agustín por estar siempre ayudándome y al pendiente durante toda mi vida y carrera en que nada me hiciera falta, los amo mucho y los aprecio por todo lo que han hecho por mí.

A mi mejor amiga y hermana Fernanda Navarro agradezco todos los días de tenerte en mi vida y haber tenido la oportunidad de vivir tantas experiencias y crecer juntas como biólogas y personas.

A mis amigos de la vida y carrera Fernanda O., Miriam Arízaga, Enetzi Iñarritu, Paulina Larrauri, Fabiana Blanco, Gabriela Mascareño, Mario Almago, Laura Celis y Jaime Zaragoza, ustedes hicieron de la carrera el viaje más placentero. Crecimos juntos y seguiremos avanzando en los caminos de la vida, pero siempre tendrán un lugar especial en mi corazón.

A los investigadores que me ayudaron en el trayecto de esta tesis y en mi introducción al mundo de la investigación, siempre dando lo mejor de ellos para hacer este trabajo posible, Moisés Montaña, Antonio Palacios, Jesús Bustamante, Miguel Arechavaleta, Fernando de la Torre, Luis Felipe Guzmán y Sergio Román.

A mi director y mejor amigo, mi padre, gracias por tu paciencia y sabiduría, No me pudo haber tocado alguien mejor con quien compartir esta experiencia.

A mi asesor y sinodales, Alfonso Islas, Anne Santerre, Patricia Castro y Alma Villalobos, por su apoyo, paciencia y consejos que me brindaron a lo largo de esta investigación.

Un hombre va hacia el conocimiento como va a la guerra: bien despierto, con respeto, con miedo y con una seguridad absoluta. El miedo es el primer enemigo que el hombre tiene que vencer en su camino al conocimiento.

–Juan Matus ¹.

¹ Tomado de Carlos Castañeda (1968)

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	IV
ÍNDICE	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
ÍNDICE DE CUADROS	VII
GLOSARIO	VIII
Resumen	1
Introducción	2
<i>Centro de origen y domesticación</i>	2
<i>Los bovinos en América</i>	2
<i>Importancia de la ganadería bovina en México</i>	3
<i>Geografía y condiciones de desarrollo del bovino Criollo mexicano</i>	3
<i>Morfología del Bovino Criollo mexicano</i>	4
<i>El Criollo Coreño</i>	5
<i>Diversidad genética en animales domésticos</i>	6
<i>Marcadores moleculares en la estimación de diversidad genética</i>	7
Antecedentes	9
Hipótesis	13
Objetivo general	14
<i>Objetivos específicos</i>	14
Materiales y Métodos	15
<i>Identificación de Hatos Criollo Coreño y Recolección de Sangre</i>	15
<i>Colecta de muestras y extracción de ADN</i>	17
<i>Análisis moleculares</i>	17
<i>Análisis Estadístico</i>	18
Discusión	24
Conclusiones	28
Literatura citada	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Hembra Criollo Coreño de pelaje bayo y cornamenta en posición hacia arriba y hacia adelante, Sitio Experimental “El Verdineño”, Municipio de Santiago Ixcuintla.	4
Figura 2. Hembra Criollo Coreño de pelaje pinta de bermejo y cornamenta abierta horizontal, Sitio Experimental “El Verdineño”, Municipio de Santiago Ixcuintla.	5
Figura 3. Ubicación de la tres poblaciones de Bovino Criollo Coreño en el Sitio Experimental “El Verdineño”, Jazmines de Coyultita y Guadalupe Ocotán (en orden de izquierda a derecha).	15
Figura 4. Toma de sangre en Guadalupe de Ocotán, municipio de La Yesca.	16
Figura 5. Toma de sangre en Jazmines de Coyultita, municipio de El Nayar.	16
Figura 6. Dr. Guillermo Martínez Velazquez y M. C. Antonio Palacios Fránquez encargados del hato Criollo Coreño en El Sitio Experimental "El Verdineño".	16
Figura 7. Transporte de muestras de sangre a través de la Sierra en el municipio de El Nayar.	17
Figura 8. Selección de ejemplares Criollo Coreño en el Sitio Experimental "El Verdineño" en el municipio de Santiago Ixcuintla.	18
Figura 9. H _c (azul) y H _o (rojo) en 29 cromosomas autosómicos de bovinos Criollo Coreño de Nayarit de la población total de Criollo Coreño.	22

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Municipios incluidos en el estudio	15
Cuadro 2. Medias de cuadrados mínimos y errores estándar para Heterocigosidad Esperada (H_e), Heterocigosidad Observada (H_o) y Frecuencia de Alelo Menor (MAF) para los 29 cromosomas autosómicos de bovinos Criollo Coreño de Nayarit.	21
Cuadro 3. Medias de cuadrados mínimos para Coancestría Molecular (f_M) en tres poblaciones de bovinos Criollo Coreño de Nayarit, México (SI = Santiago Ixcuintla, EN = El Nayar y LY = La Yesca).	23

GLOSARIO

Alelo. Formas alternas de los genes. Debido a que los genes se encuentran en pares en las células de los seres vivos, un gen de un par puede tener efecto y el otro gen del mismo par (alelo) puede tener otro efecto diferente en una misma característica.

Coancestría Molecular o Identidad por Estado (f_{Mij}/IBS). Para un locus en particular la coancestría molecular entre dos individuos i y j se define como la probabilidad de que dos alelos tomados al azar de cada individuo sean iguales (IBS). Esto puede ocurrir porque los alelos representen copias de un mismo alelo en la población base o porque ambos alelos estaban presentes en la población base o fundadora.

Coefficiente de consanguinidad. Medida del nivel de consanguinidad de un individuo; varía entre 0 y 1; representa la proporción de loci en el individuo en los que ambos genes son copias idénticas de un gen ancestral.

Consanguinidad. Apareamiento de individuos emparentados en mayor grado que el promedio de la población. La consanguinidad reduce la proporción de pares de genes heterocigóticos en los descendientes y aumenta la proporción de pares de genes homocigóticos; aumenta la frecuencia de manifestación de defectos genéticos causados por genes recesivos.

Cromosoma. Los cromosomas son filamentos de ADN en los que se localizan los genes, junto con estructuras proteicas. El genoma bovino consta de 30 pares de cromosomas.

Desequilibrio de ligamiento. Una asociación no aleatoria entre alelos de diferentes loci que se traduce en la no segregación de manera independiente de los alelos (poseen una frecuencia de recombinación menor al 50 %). En general esto ocurre en loci que se encuentran cercanos entre si en el mismo cromosoma.

Distancia genética. Medida de las diferencias genéticas entre dos poblaciones (o especies) calculados sobre la base de las frecuencias alélicas de ambas poblaciones.

Diversidad genética. Es la variedad de alelos y genotipos presentes en una población que se expresan en el fenotipo, fisiología y comportamiento diferenciado entre individuos y poblaciones.

Ecotipo. Una subpoblación dentro de una raza que se adapta genéticamente a un hábitat específico.

Equilibrio Hardy-Weinberg. Estado de una población panmíctica, sometida exclusivamente a las leyes de la transmisión mendeliana, en que las frecuencias génicas y genotípicas se mantienen constantes.

Frecuencia de alelo menor (MAF). Un alelo menor es el alelo que tiene la menor frecuencia de entre todos los alelos en una población dada. La MAF es una medida utilizada para evaluar SNP que se refiere a la frecuencia del menos común de un par de alelos.

Heterocigosidad. Condición en la que los dos alelos en un locus dado son diferentes, se utiliza a menudo como una medida de la diversidad genética. Cuantifica la variación genética mediante la estimación de las frecuencias de heterocigotos en una población. La heterocigosidad puede ser expresada como valores observados (H_o) o valores esperados (H_e).

Índice de fijación (F_{st}). Mide el grado de disminución de heterocigosis alcanzado en la población respecto al máximo posible.

Marcador genético o marcador molecular. Secuencia de ADN con la variabilidad observable (polimorfismo) que proporciona información acerca de la variación que no es directamente observable.

Polimorfismo. Porcentaje de loci variables. Se establece que un locus es polimórfico si el alelo más frecuente no supera el 95% (o el 99% de manera más restrictiva).

Productividad. Un rasgo fenotípico que da cuenta de la cantidad de un producto producido por un animal o raza (en promedio), considerándose los insumos requeridos para alcanzar dichos resultados.

Raza:

- Grupo subespecífico de ganado doméstico con características externas definibles e identificables que le permiten estar separado por apreciación visual de otros grupos definidos de manera similar dentro de la misma especie.
- Grupo con separación geográfica o cultural de los grupos fenotípicamente definidos que ha llevado a la aceptación de su identidad individual o un grupo para el cual la separación cultural geográfica de los grupos fenotípicamente similares ha llevado a la aceptación de su identidad separada.
- Una raza es un grupo subespecífico del ganado doméstico con una historia común, cuyos miembros son tratados de una manera común con respecto a la gestión genética.

Raza local. Una raza que se produce en un solo país.

Raza localmente adaptada. Una raza que ha estado en el país durante el tiempo suficiente para adaptarse y cambiar su constitución genética a uno o más de los sistemas de producción tradicionales o entornos en el país. La frase "tiempo suficiente" se refiere al tiempo presente en uno o más de los sistemas de producción

tradicionales del país o ambientes. Tomando los aspectos culturales, sociales y genéticos en cuenta, un período de 40 años y seis generaciones de la respectiva especies pueden ser consideradas como un valor guía de "tiempo suficiente".

Raza en riesgo. Raza con características demográficas (principalmente atribuidas al tamaño poblacional) que tiende a desaparecer en el futuro a menos de que un programa de conservación sea implementado.

Rusticidad. Conjunto de características heredables que le permiten superar las variaciones aleatorias y adversas del medio ambiente, sin disminuir de forma significativa su capacidad productiva. La rusticidad es una adaptación que se da a través de regulaciones biológicas y de comportamiento.

Servicios de los ecosistemas. Los beneficios que las personas obtienen de los ecosistemas que incluyen servicios de aprovisionamiento tales como alimentos, agua, madera y fibra; servicios de regulación que afectan el clima, inundaciones, enfermedades, desechos y calidad del agua; servicios culturales que proporcionan recreativos, estéticos y beneficios espirituales; y servicios de apoyo tales como la formación del suelo, fotosíntesis y el ciclo de nutrientes.

Selección. Cualquier proceso, natural o artificial, que da lugar a diferentes probabilidades de supervivencia (y en particular en el número de crías) entre los miembros de una población. Selección tiende a disminuir la diversidad genética debido a que los genes de animales no seleccionados no se pasan a la generación subsiguiente.

Valor adaptativo. Propiedad de un carácter que contribuye a la supervivencia de un organismo.

Resumen

El bovino Criollo mexicano es un recurso genético valioso por su rusticidad y capacidad de adaptación a ecosistemas con escasa disponibilidad de alimento y condiciones ambientales difíciles. Este tipo de ganado generalmente se asocia a poblaciones rurales de difícil acceso y bajos recursos económicos en las cuales tiene un papel socioeconómico, ecológico y cultural importante. Las poblaciones de bovino Criollo mexicano son reservorios importantes de diversidad genética y su conservación es de alta prioridad. Considerando lo anterior se planteó el presente estudio con el objetivo de estimar la diversidad genética de tres poblaciones de bovino Criollo Coreño de Nayarit mediante la secuenciación masiva de SNPs. El control de calidad de los genotipos se realizó con el software Plink 1.07. Las bases de datos obtenidas a partir de Plink 1.07 se editaron con el software Microsoft Access®. De lo anterior se generaron archivos con información disponible para análisis estadísticos que se realizaron con el método de Cuadrados Mínimos Generales del procedimiento de Modelos Lineales Generales del software SAS. Las variables analizadas fueron Heterocigosidad esperada (H_e), Heterocigosidad observada (H_o), Frecuencia del Alelo Menor (MAF) y Coancestría molecular (f_M). Los modelos finales incluyeron como variable independiente cromosoma (29 niveles) o municipio (SI = Santiago Ixcuintla, EN = El Nayar y LY = La Yesca). Para H_e los resultados mostraron diferencias importantes en la diversidad genética presente en los cromosomas autosómicos con rangos que fluctuaron entre 0.2982 (cromosoma 13) y 0.3477 (cromosoma 18), para H_o entre 0.2914 (cromosoma 13) y 0.3402 (cromosoma 18) y para MAF entre 0.2206 (cromosoma 13) y 0.2653 (cromosoma 18). Las coancestrías estimadas en las poblaciones en los tres municipios indicaron diferencias genéticas entre la población EN ($P < 0.0001$) y las poblaciones SI y LY. No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre las poblaciones SI y LY. Existe alta diversidad genética poblacional en el bovino Criollo Coreño de Nayarit y esta diversidad reside, principalmente, en la población bovina del Municipio de "El Nayar", ubicado en la región de la Sierra Madre Occidental del estado de Nayarit.

Palabras Clave: Bovino, Criollo Coreño, Diversidad genética, SNPs.

Introducción

Centro de origen y domesticación

Existe evidencia arqueológica y genética que plantea la domesticación del ganado bovino a partir de las especies *Bos indicus* (cebu) y *Bos taurus* (taurino) provenientes de la especie *Bos primigenius* (Lenstra y Bradley 1999). El ganado taurino se domesticó en el cercano y medio oriente mientras que se reconoce al subcontinente Indio como el centro de domesticación del ganado Cebú (Meadow, 1993; Machugh *et al.*, 1997; Zeder *et al.*, 2006). La evidencia arqueológica indica que después de su domesticación el ganado europeo siguió dos caminos principales para su distribución por Europa asentándose en zonas con condiciones óptimas para la ganadería y la agricultura (Bogucki, 1996). Estos eventos de domesticación ocurrieron hace 7,000-10,000 años y se cree que los grupos *taurus* e *indicus* compartieron el último ancestro común hace aproximadamente 200,000 años (McTavish, 2013).

Dentro de los mamíferos los bóvidos son una de las familias más ampliamente distribuidas en el planeta, las especies que forman este grupo han sido domesticadas y actualmente son económica y culturalmente importante. Cabe señalar que ecológicamente los bovinos representan especies que por su ciclo de vida y su tamaño, actúan como sombrilla de otras especies (Vuure, 2002). Las especies *Bos taurus* y *Bos indicus* conforman la ganadería bovina que es una actividad de gran importancia en el mundo (SIAP, 2013).

Los bovinos en América

En América los bovinos y otros animales de producción no existían hasta la colonización de los españoles, *Bos taurus* fue la primera especie de los bóvidos en ser introducida (McTavish, 2013). El ganado bovino llegó al continente americano en 1493 durante el segundo viaje de Cristóbal Colón. A partir de 1502 se empezaron a mandar más cabezas de bovinos a las nuevas colonias y para 1512 las importaciones de bovinos cesaron (De Alba, 2011).

Durante 500 años los bovinos de México han pasado por un proceso de adaptación (entre 80 y 200 generaciones) a los diferentes ecosistemas que existen en el país. Este proceso contó con la variación genética generada por la ascendencia híbrida de los animales que se trajeron al continente americano (McTavish, 2013). Como consecuencia del proceso de adaptación existen en México poblaciones de ganado denominados Criollo del Golfo, Criollo de la Sierra Madre Occidental, Criollo del desierto de Baja California, Criollo de las montañas del Norte y Criollo Lechero Centroamericano. Este tipo de ganado generalmente se asocia a poblaciones rurales

de difícil acceso y bajos recursos económicos en las cuales tiene un papel socioeconómico, ecológico y cultural importante (SAGARPA, 2002).

Importancia de la ganadería bovina en México

En México el sector pecuario aporta dos quintas partes del valor agroalimentario nacional, la ganadería bovina contribuye con el 43 % de la producción total pecuaria lo que representó un valor de producción de 123,227 millones de pesos en el año 2012 (SIAP, 2013). Los recursos genéticos disponibles para la ganadería bovina en México se agrupan en 45 razas entre las que se incluyen poblaciones locales adaptadas que representan ecotipos del bovino Criollo mexicano (SAGARPA, 2002). Éstos ecotipos son recursos genéticos valiosos considerando su contribución a la diversidad genética de la ganadería bovina, por lo cual es importante tomar medidas para su conservación, se disminuye la consanguinidad y los cruzamiento no planeados (Delgado *et al.*, 2011), así se evita la erosión de este recurso genético.

Geografía y condiciones de desarrollo del bovino Criollo mexicano

Las poblaciones de bovino Criollo mexicano se localizan principalmente en los estados de Baja California Sur, Chihuahua, Durango, Nayarit, Sonora y Zacatecas. Son un recurso genético desarrollado en ecosistemas tropicales, áridos, semiáridos y templados. Su valor más alto reside en su rusticidad y capacidad de adaptación a ecosistemas con escasa disponibilidad de alimento y condiciones ambientales difíciles (SAGARPA, 2002). La rusticidad del bovino Criollo, al igual que en otros animales, esta dada por la selección natural y se define como el conjunto de características heredables que le permiten superar las variaciones aleatorias y adversas del medio ambiente, sin disminuir de forma significativa su capacidad productiva. La rusticidad es una adaptación que se da a través de regulaciones biológicas y de comportamiento y que se refleja en lo siguiente: a) la capacidad de amortiguar una situación de déficit nutricional con las reservas corporales, b) la capacidad de recuperar rápidamente el estado o condición corporal, c) la termorregulación para ajustarse a las variaciones aleatorias del clima, d) la aptitud para la marcha en superficies con topografía accidentada, e) la capacidad de obtener provecho de un territorio heterogéneo, demostrando un comportamiento adaptado a la vegetación (selectividad, capacidad de ingestión y digestiva) y f) la resistencia a las enfermedades infecciosas y parasitarias comunes en el medio (Villa, 2010).

Morfología del Bovino Criollo mexicano

En relación a las características fenotípicas del bovino Criollo mexicano diferentes estudios señalan que estas poblaciones presentan una coloración muy variada en la que se incluyen berrendo colorado y negro, hosco (Figura 1), colorado, negro, retinto, gateado, negro careto, colorado careto, barroso rubio, moro, blanco orejinegro y colorado mascarillo. Los cuernos pueden ser abiertos hacia arriba y hacia delante, abiertos hacia arriba y hacia atrás o abiertos horizontales (Figura 2) y forma de lira. El cráneo se presenta en tres formas; cóncava, convexa y plana. Sus orejas son un indicio importante de su pureza, son pequeñas y peludas. La papada es corta y poco pronunciada. El lomo es de forma pandeada en la parte central y alzado en la parte posterior. Su grupa es estrecha y con alzada, marcando los huesos ilíacos. El prepucio en machos y ombligo en hembras es recogido y corto. Los testículos y ubres se encuentran bien implantadas. La inserción de la cola es alta y larga, la borla debe presentarse abundante y larga. La altura a la cruz en hembras es de aproximadamente 117 cm mientras que en machos la altura es de 120 cm. Las vacas pesan aproximadamente 300 kg y los toros 400 kg mientras que el peso al nacer suele estar por debajo de los 18 kg (SAGARPA, 2002; ASOCRIOLLO 2012).



Figura 1. Hembra Criollo Coreño de pelaje bayo y cornamenta en posición hacia arriba y hacia adelante, Sitio Experimental “El Verdineño”, Municipio de Santiago Ixcuintla

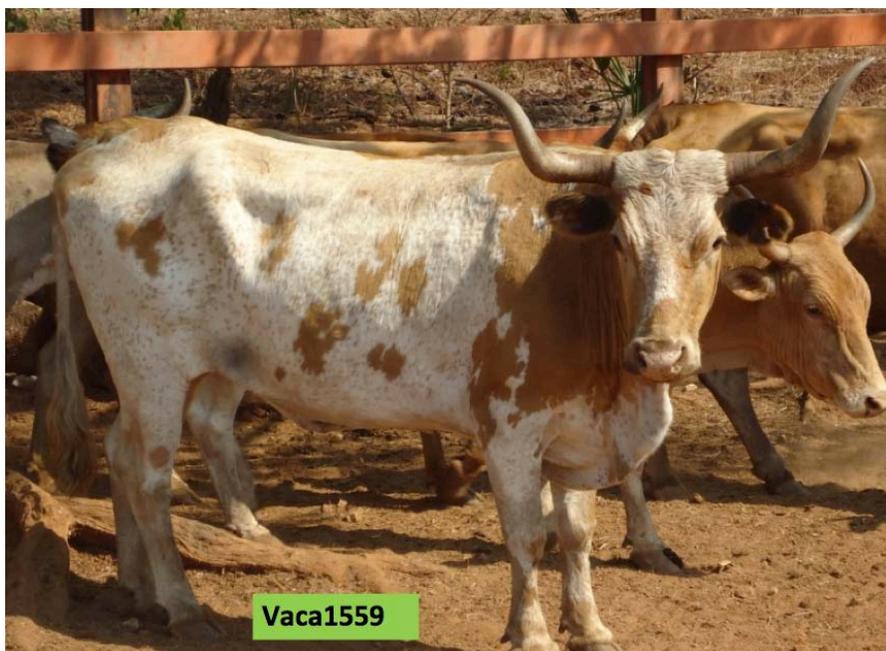


Figura 2. Hembra Criollo Coreño de pelaje pinta de bermejo y cornamenta abierta horizontal, Sitio Experimental “El Verdineño”, Municipio de Santiago Ixcuintla.

El Criollo Coreño

En la presente investigación se trabajará con tres poblaciones de ganado Criollo Coreño. La denominación de este Criollo se debe principalmente a la gente que lo trabaja y lo posee, el grupo indígena Cora de la Sierra de Nayarit. Dos de éstas poblaciones se ubican en la región de la Sierra Madre Occidental que incluye los municipios de El Nayar y La Yesca mientras que la tercera se localiza en el municipio de Santiago Ixcuintla en la región costera de Nayarit. En la región de la sierra, el ganado Criollo Coreño pastorea en cerros, laderas y barrancas cuyas vías de acceso, cuando existen, son brechas transitables a pie o a caballo. Este ganado es de temperamento dócil bajo condiciones de manejo constante y llega a utilizarse como animal de apoyo en labores agrícolas. Esta mansedumbre es consecuencia del contacto permanente que la familia tiene con el ganado al cuidarlo mientras pastorea, el pastor se mantiene con el rebaño todo el día. Se estima un censo de 16,360 cabezas de este tipo de ganado en la región de la Sierra Madre Occidental que comparten los estados de Durango, Jalisco, Nayarit y Zacatecas, con promedios de 18 y 107 kg para peso al nacer y al destete y promedios de 363 y 278 kg para peso adulto de toros y vacas, respectivamente (Martínez, 2005).

Diversidad genética en animales domésticos

En los animales domésticos la diversidad se describe en términos de la diversidad fenotípica que resulta de la interacción del genotipo con el ambiente (Hanotte *et al.*, 2005). La diversidad genética se define como la variedad de alelos y genotipos presentes en una población que se expresan en el fenotipo, fisiología y comportamiento diferenciado entre individuos y poblaciones (Frankham *et al.*, 2002). Desde un punto de vista funcional, la diversidad genética puede clasificarse como neutral, deletérea y adaptativa (Hedrick, 2001). Los trabajos de análisis de estructura poblacional y diversidad genética en bovinos se basan principalmente en estudios dentro de una raza o entre razas, a diferencia de animales no domesticados en los cuales la diversidad se evalúa por especie.

En los países en desarrollo la diversidad genética está amenazada por factores como la utilización de germoplasma importado, cambios en los sistemas de producción, cambios en las preferencias de los consumidores, epidemias, guerras y desastres naturales (Rege y Gibson, 2003). Tomando en cuenta la producción de alimentos de origen animal es importante resaltar que la disminución de la diversidad genética significa una disminución de la capacidad de enfrentar cambios futuros en los sistemas de producción comprometiendo así la seguridad alimentaria. Preservar la diversidad genética de las especies nativas significa conservar un respaldo biológico invaluable para resolver necesidades futuras de mejoramiento de los sistemas de producción, para investigar las bases genéticas de la variación fenotípica y para reconstruir la historia de los animales de granja (Groeneveld *et al.*, 2010).

La diversidad genética del bovino Criollo mexicano constituye un recurso genético importante que contribuye al diseño de sistemas de producción pecuaria con requerimientos de bajos insumos. Utilizar este recurso genético no implica cambios radicales en los agostaderos y ayuda a mantener la sustentabilidad de los sistemas de producción puesto que su dieta esta basada en gramíneas y leguminosas nativas (Tewolde, 2000). Cabe mencionar que algunos autores señalan que por su equilibrio con el medio ambiente el ganado Criollo se considera de bajo impacto ecológico ya que su alimentación se basa en especies arbóreas, arbustivas y frutos (Fierro y Pámanes, 1998).

Los métodos más comunes para evaluar la diversidad genética en los animales domésticos son: a) El análisis de pedigrí que evalúa la variabilidad genética en términos de probabilidades de identidad génica (coeficientes de parentesco y endogamia) y probabilidades de origen del gen, b) los fenotipos (o descripción de genes visibles) que nos dan una visión global de la variabilidad de los genes que regulan las características observadas y, c) los marcadores moleculares que son secuencias polimórficas de ADN con diferentes variantes conocidas como alelos, que difieren en el número de repeticiones en tándem, como pasa en los microsatélites, o

variaciones de un nucleótido como sucede en los polimorfismo de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés). (Vu Tien Khang, 1983; Verrier *et al.*, 2005; FAO 2011).

Marcadores moleculares en la estimación de diversidad genética

Durante las últimas dos décadas los marcadores moleculares han jugado un papel creciente en los estudios de genética animal al revelar polimorfismos a nivel de ADN útiles para estimar la diversidad genética de las poblaciones (Vignal *et al.*, 2002; Groeneveld *et al.*, 2010). De acuerdo a el tipo de información que generan en un locus simple los marcadores moleculares se clasifican en: a) bialélicos dominantes como los RAPD (amplificación aleatoria de ADN polimórfico) y los AFLP (polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados), b) bialélicos co-dominantes como los RFLP (polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción), los SSCP (polimorfismos de conformación de cadena simple) y los SNP y c) multialélicos co-dominantes como los microsatélites (Vignal, 2002).

Los microsatélites fueron descritos por primera vez como marcadores de ADN polimórficos en 1989 (Litt y Luty, 1989; Tautz, 1989; Weber y May, 1989). Se caracterizan por ser muy polimórficos y estar distribuidos por todo el genoma por lo que se han utilizado ampliamente como marcadores genéticos en estudios de genética animal. Los microsatélites han tenido gran impacto en la genética molecular y desde principios de los años 90 se han utilizado para evaluar la diversidad genética de los animales de granja (Groeneveld *et al.*, 2010). Cabe señalar, sin embargo, que actualmente hay otras tecnologías disponibles para la caracterización molecular de las poblaciones y ésta ya no recae exclusivamente en la genotipación por microsatélites. Se pronostica que estas nuevas herramientas sustituirán a los microsatélites en muchas aplicaciones. Entre las tecnologías recientes más utilizadas están las plataformas de alta densidad que son secuencias ordenadas de SNPs sobre un soporte sólido y están disponibles para la mayoría de los animales de granja. Actualmente se trabaja en generar modelos de referencia para vincular información ya existente de diversidad genética, basada en microsatélites, con la nueva gama de marcadores basados principalmente en los SNPs (FAO, 2011).

Los SNPs son variaciones de un nucleótido en la secuencia de ADN en una única ubicación dentro del genoma de una especie o raza. Estos marcadores suelen tener sólo dos alelos, generalmente están distribuidos en todo el genoma y pueden representar la diversidad genética neutral o funcional (FAO 2011). A través del tiempo miles de SNPs han aparecido como resultado de mutaciones considerándose que, aproximadamente, al menos un SNP se ubica entre cada 100 y 300 bases a través de los 3 billones de pares de bases del genoma bovino representando los marcadores moleculares más abundantes (BIF, 2010). Se ha encontrado que los SNPs son más abundantes en las zonas no-codificantes del genoma. Aquellos SNPs que se presentan en zonas codificantes se les clasifica como mutaciones silenciosas o de sustitución. Los cambios silenciosos son aquellos en el que el

cambio de una base nitrogenada por otra no afecta la al aminoácido. Las mutaciones de sustitución si afectan y cambian el aminoácido para el cual codifica el codón (Manikanda-Boopathi, 2013). Algunos SNPs que se encuentran en regiones codificantes de un gen y pueden afectar la estructura y función de una proteína, este tipo de variación puede ser responsable de las diferencias fenotípicas entre los individuos (BIF, 2010).

En relación con los microsatélites, los SNPs tienen las ventajas siguientes: a) se heredan con mayor estabilidad al tener menor probabilidad de mutaciones espontáneas (BIF, 2010), b) el conteo alélico es inequívoco y facilita la integración de bases de datos de diferentes laboratorios, c) se considera cada marcador individualmente, el costo del genotipado es más barato, d) el gran número de SNPs en el genoma permite una descripción muy precisa de relaciones individuales y de raza, e) con plataformas de alta densidad se pueden identificar SNPs en desequilibrio de ligamiento con cualquier tipo de variación en el ADN implicada en variación fenotípica. Esto permite el uso de la información genómica para la predicción de los valores genéticos dentro y posiblemente entre razas (FAO 2011), y f) los SNPs pueden revelar variación genética tanto neutral como funcional, lo que puede conducir a la identificación de variantes génicas asociadas a fenotipos específicos (Kohn *et al.*, 2006).

Entre los inconvenientes que interfieren con el uso de los SNPs para realizar estudios de diversidad genética en poblaciones locales, sobresale el sesgo generado por la inexactitud en las evaluaciones. El sesgo mencionado resulta de la utilización de paneles construidos con el objetivo de apoyar la selección genómica y, por lo tanto, la mayoría de los SNPs en estos paneles proceden de razas transfronterizas internacionales y no de razas locales. Lo anterior puede significar que algunos de los SNPs utilizados sean monomórficos en razas locales y que loci polimórficos en las razas locales puedan ser excluidos. Para solucionar la problemática anterior se requiere desarrollar paneles de SNPs para estudios de diversidad que incorporen SNPs descubiertos en un grupo más representativo de razas que cubran la mayor parte de la diversidad existente dentro de cada especie. Cabe señalar que otro problema importante a considerar al analizar SNPs en paneles de alta densidad es la gran cantidad de datos que se generan y que hacen imprescindible contar con infraestructura y personal especializado en bioinformática, análisis genéticos y manejo de datos (FAO, 2011).

Antecedentes

Los estudios moleculares de diversidad genética y estructura de poblaciones de bóvidos se han basado principalmente en marcadores microsatélites (Goudarzi *et al.*, 1997; MacHugh *et al.*, 1998; Mukesh *et al.*, 2004), entre los que sobresalen los 30 microsatélites sugeridos por FAO (2011). Sin embargo, en años recientes los marcadores SNP han estado disponibles para análisis de diversidad y estudios del genoma bovino, lo que hace posible estimaciones más detalladas de la diversidad genética entre y dentro de razas (Tassell *et al.*, 2008).

Un estudio realizado para trazar la huella genética del bovino Ibérico en América estableció que las poblaciones de ganado criollo difieren ampliamente entre ellas tanto en su estructura genética como en la influencia recibida de otras razas. De manera específica, el estudio mostró una influencia importante del ganado *Bos indicus* en los criollos de razas tropicales, especialmente en aquellos de la región del Caribe. Los marcadores microsatélites utilizados permitieron estimar globalmente para las 27 razas de Criollo muestreadas, un promedio y un número efectivo de alelos de 14.21 ± 3.74 y 4.08 ± 0.57 , respectivamente, mientras que para heterocigosidad observada y heterocigosidad esperada los valores estimados fueron de 0.719 ± 0.004 y 0.805 ± 0.014 , respectivamente (Martínez *et al.*, 2012). Existen datos que señalan a algunas poblaciones de bovino criollo como reservorios importantes de diversidad genética, así, en un estudio en el que se usaron microsatélites se determinaron las prioridades de conservación de bovinos iberoamericanos demostrándose que, en general, las poblaciones criollas tienen un nivel alto de diversidad genética, considerándose de alta prioridad su conservación. Sin embargo, para su conservación también se recomienda implementar programas de mejoramiento y cruzamiento en las poblaciones mencionadas. Cabe señalar que con respecto al criollo mexicano, en el estudio mencionado se reportan los siguientes valores de heterocigosidad observada, heterocigosidad esperada y número promedio de alelos: 0.742 ± 0.158 , 0.760 ± 0.082 y 7.05 ± 1.58 para Criollo de Baja California; 0.719 ± 0.168 , 0.777 ± 0.080 y 6.68 ± 1.49 para Criollo de Chihuahua y 0.749 ± 0.121 , 0.788 ± 0.077 y 7.74 ± 1.94 para Criollo de Nayarit (Ginja *et al.*, 2013). En concordancia con lo anterior y con base en información generada con microsatélites, el estudio de Delgado y colaboradores (2011) sobre caracterización genética de ganado criollo latinoamericano también recomienda el establecimiento de estrategias de conservación para el ganado criollo. Esta recomendación se basa en la necesidad de minimizar la consanguinidad en estas poblaciones y de establecer sistemas de cruzamiento controlados que permitan mantener la diversidad genética de este tipo de ganado. Para lo anterior se sugiere que se apoye y promueva el reconocimiento a los bovinos criollos como poblaciones diversas genéticamente y se ofrezca asistencia técnica a los propietarios de este recurso genético para que implementen programas de conservación y mejoramiento acordes a las características específicas de cada país. Cabe señalar que con respecto al criollo mexicano, en este estudio se reportaron coeficientes de consanguinidad de 0.025 para Criollo de Baja California, 0.077 para Criollo de Chihuahua y 0.050 para Criollo de Nayarit. (Delgado *et al.*, 2011). Por otro lado, un estudio en el que se

utilizaron marcadores microsatélites en ganado enfocado a la producción de leche de la raza Criollo Limonero mostró la existencia de una alta diversidad molecular comparable a la reportada en otras poblaciones de Latinoamérica. Los autores señalan al Criollo Limonero como patrimonio nacional de Venezuela y un recurso genético importante para la producción animal en las regiones tropicales de Venezuela y América latina. Los valores de heterocigosidad esperada, número promedio de alelos por locus y polimorfismo para Criollo Limonero fueron de 0.689, 8.7 y 0.651, respectivamente; las heterocigosis esperadas variaron entre 0.355 y 0.787 y el polimorfismo fluctuó entre 0.302 y 0.757 (Villasmil-Ontiveros *et al.*, 2008). En otro experimento realizado sobre caracterización genética con microsatélites de vacas de la raza Criollo Lechero Tropical ubicadas en Veracruz, México, se evaluó la variabilidad genética y la estructura de esta población se estima una gran diversidad genética de la raza. En este experimento también se comparo al Criollo Lechero Tropical con otras razas criollas, europeas y autóctonas españolas se determinó que los animales en el estudio no mostraron tener influencia de otras razas. Los valores estimados de heterocigosidad observada, heterocigosidad esperada, frecuencias alélicas e índice de contenido polimórfico para Criollo Lechero Tropical fueron de 0.639, 0.702, 7.36 y 0.658, respectivamente (Canales *et al.*, 2014). Otro estudio realizado con ganado criollo mexicano evaluó la estructura genética de cuatro poblaciones en regiones aisladas de la Sierra Madre Occidental en los estados de Chihuahua, Guerrero, Nayarit y Durango, se encontró altos niveles de diversidad genética y se estableció que las poblaciones criollas ubicadas en diferentes regiones de México han desarrollado extensas diferencias genéticas entre ellas. Para las cuatro poblaciones evaluadas se estimó que los valores de heterocigosidad esperada fluctuaron entre 0.71 ± 0.07 y 0.85 ± 0.04 mientras que el número de alelos varió entre 10.2 y 13.6. En el estudio se concluye que estas poblaciones pueden ser un reservorio de diversidad genética útil para el desarrollo de razas locales o como fuente de nuevos alelos que puedan contribuir al mejoramiento de líneas comerciales de bovinos (Ulloa *et al.*, 2008).

Se han publicado resultados de investigaciones realizadas con marcadores SNPs. Así, 1536 SNPs se utilizaron para evaluar la estructura y las relaciones genéticas de 14 razas bovinas originarias de Europa y África que incluyeron muestras de doce razas *Bos taurus*, una raza *Bos indicus* y una raza *Bos taurus* x *Bos indicus*. En el estudio se determinó la variabilidad genética dentro de cada raza a través de la estimación de valores de heterocigosidad esperada, número promedio de alelos y diversidad génica no sesgada los cuales fluctuaron entre 0.182 ± 0.203 y 0.318 ± 0.168 , 1.54 y 1.90, y 0.188 ± 0.207 y 0.322 ± 0.170 , respectivamente (Gautier *et al.*, 2007). Por otro lado, en el año 2008 se publicó una evaluación de la estructura poblacional de seis razas *Bos taurus* y dos razas *Bos indicus* en la que se usó un panel de alta densidad genotipándose 2,641 SNPs que cubrían todo el genoma autosómico bovino. Los resultados de esta evaluación mostraron que el mayor nivel de diferenciación genética ocurrió entre las razas *Bos taurus* y *Bos indicus*, esta diferenciación representó un 18.79 % de la variación molecular total, mientras que para la variación entre poblaciones dentro de grupos y dentro de las poblaciones se estimaron valores de 10.15 y 71.06 % , respectivamente (McKay, 2008). En otro estudio en el que se utilizaron 58 SNPs seleccionados para cubrir todos los autosomas (de un total de 2641 SNPs disponibles),

se evaluaron la diversidad genética y la estructura poblacional de nueve poblaciones bovinas que incluían animales *Bos taurus* y *Bos indicus*. Los resultados de los análisis de frecuencias alélicas menores y heterocigosidades sugieren menor diversidad genética en las poblaciones *Bos indicus* comparadas con las poblaciones *Bos taurus*, con promedios globales de heterocigosidad esperada y observada de 0.204 y 0.195 para *Bos indicus* y de 0.356 y 0.338 para *Bos taurus*, y una distribución de frecuencias alélicas menores que fluctuaron entre 0.121 para Holstein japonés (*Bos taurus*) y 0.621 para la población nativa Laotian (*Bos indicus*) (Lin *et al.*, 2010). Por otro lado, resultados obtenidos con información de seis razas *Bos taurus* se utilizaron para evaluar la capacidad informativa de SNPs genotipados con la plataforma "Illumina Bovine SNP50K". En el estudio se estimó la variación genética de las frecuencias alélicas menores, se encontró como valores extremos 0.191 y 0.224 para las razas Hanwoo y Charolais, respectivamente mientras que para las razas restantes los valores fueron de 0.210 (Limousin), 0.212 (Angus), 0.215 (Holstein) y 0.223 (Simmental). Los autores concluyeron que los SNPs y la información que generan representan un recurso amplio y prometedor que permitirá complementar la investigación enfocada a loci de caracteres cuantitativos (QTL, por sus siglas en inglés) complejos y los programas de mejoramiento genético en bovinos (Dadi *et al.*, 2012). Otros autores han diseñado experimentos para comparar métodos de estimación de diversidad genética, así, en un estudio en el que se analizó información de dos grupos de bovinos Holstein (de alto y bajo índice de producción de Leche, grasa y proteína) se evaluó la diversidad genética mediante análisis de pedigrí y genotipación de SNPs (Illumina Bovine SNP50K). Con ambos métodos se detectaron diferencias importantes entre la diversidad de los dos grupos. Los parámetros utilizados para medir la diversidad genética fueron coeficiente de parentesco para análisis de pedigrí y heterocigosidad esperada para SNPs. Se estimaron valores de 0.089 y 0.073 para coeficiente de parentesco global y entre grupos, y valores de 0.311 y 0.316 para heterocigosidad esperada global y entre grupos. Los resultados indicaron que ambos métodos fueron comparables y capaces de detectar diferencias genéticas de forma eficaz. Sin embargo, la información sobre diversidad generada con los SNPs fue más amplia y detallada, y adicionalmente, permitió ubicar las regiones cromosómicas causantes de las diferencias genéticas (Engelsma *et al.*, 2012). Por otro lado, en un estudio para evaluar la diversidad genética y estructura poblacional de cinco razas indígenas de Etiopía y la raza Hanwoo coreana se utilizaron 8,773 marcadores SNPs. Entre las razas de Etiopía la proporción de SNPs con frecuencias alélicas menores varió entre 81.63 y 85.30 % con un promedio de 83.96% para todas las poblaciones. La raza Hanwoo mostró la proporción más alta de polimorfismos con frecuencias alélicas menores que representaron el 95.21 % del total de SNPs. El promedio de heterocigosidad esperada varió desde 0.370 ± 0.116 hasta 0.410 ± 0.104 en todas las poblaciones. Los resultados mostraron una baja diferenciación genética entre las poblaciones de Etiopía pero éstas si fueron genéticamente diferentes de la raza Hanwoo. En el estudio se concluye que las razas indígenas de Etiopía han retenido cantidades importantes de variación genética (Edea *et al.*, 2013).

Los SNPs son los marcadores más abundantes en el genoma y están disponibles en paneles de alta densidad que cubren todo el genoma bovino. De manera acelerada los SNPs están convirtiéndose en los marcadores de elección en el área de la genética (Gupta *et al.*, 2001). Por otro lado, el bovino Criollo mexicano es un recurso genético valioso por su rusticidad y capacidad de adaptación a ecosistemas con escasa disponibilidad de alimento y condiciones ambientales difíciles (SAGARPA, 2002). Estas poblaciones son reservorios importantes de diversidad genética y su conservación es de alta prioridad (Ginja *et al.*, 2013).

El presente estudio se plantea estimar la diversidad genética del bovino Criollo Coreño utilizando marcadores SNPs en plataformas de alta densidad.

Hipótesis

Existe alta diversidad genética en la población de bovino Criollo Coreño de Nayarit y esta diversidad se puede estimar con plataformas de alta densidad de SNPs.

Objetivo general

Estimar la diversidad genética mediante SNPs en tres poblaciones de bovino Criollo Coreño ubicadas en tres municipios de Nayarit.

Objetivos específicos

- Identificar morfológicamente a ejemplares de Criollo Coreño provenientes de hatos ubicados en tres regiones de Nayarit.
- Generar colección de ADN de tres poblaciones de bovinos Criollo ubicadas en Nayarit.
- Estimar parámetros básicos de diversidad genética en hatos de bovino Criollo Coreño en Nayarit.

Materiales y Métodos

Identificación de hatos Criollo Coreño y recolección de sangre

Los hatos criollos se ubicaron a través de entrevistas con ganaderos originarios de municipios ubicados en la sierra de Nayarit (Figura 3). Con base en la información obtenida se realizaron visitas a comunidades indígenas para tomar fotografías del ganado y así verificar las características fenotípicas del mismo, de acuerdo al patrón racial de la Asociación de Criadores de Ganado Criollo Mexicano A. C. (ASOCRIOLLO 2012). Los municipios muestreados se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Municipios incluidos en el estudio.

Localidad	Municipio	Coordenadas	Altitud
Jazmines de Coyultita	El Nayar (EN)	21° 59' 53.95" N 104° 38' 50.72" O	993 msnm
Guadalupe Ocotán /El Encinal	La Yesca (LY)	21° 53' 24.61" N 104° 21' 22.19" O	1091 msnm
Sitio Experimental "El Verdineño"	Santiago Ixcuintla (SI)	21° 42' 11.34" N 105° 07' 47.40" O	51 msnm

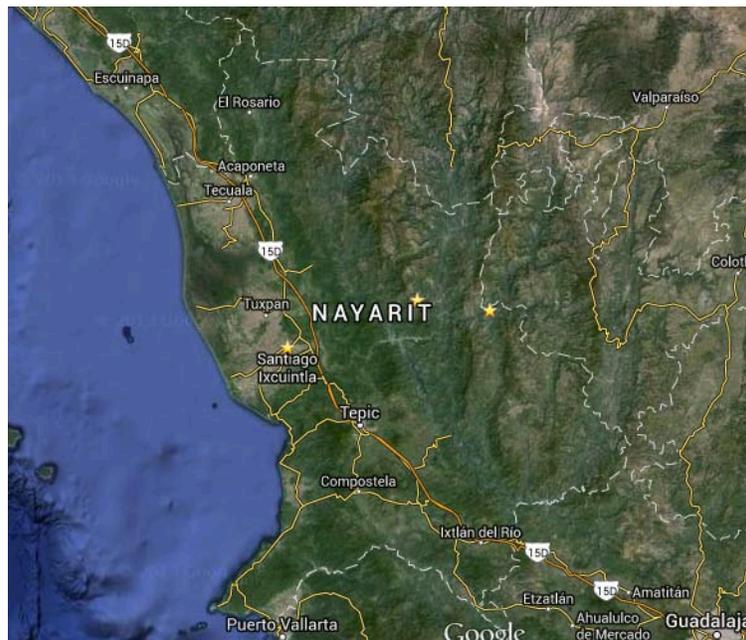


Figura 3. Ubicación de las tres poblaciones de Bovino Criollo Coreño en el Sitio Experimental "El Verdineño", Jazmines de Coyultita y Guadalupe Ocotán (en orden de izquierda a derecha).



Figura 4. Toma de sangre en Guadalupe Ocotán, municipio de La Yesca.



Figura 5. Toma de sangre en Jazmines de Coyultita, municipio de El Nayar.



Figura 6. Dr. Guillermo Martínez Velazquez y M. C. Antonio Palacios Fránquez encargados del hato Criollo Coreño en El Sitio Experimental "El Verdineño".

Colecta de muestras y extracción de ADN

Durante el período comprendido entre Abril y Agosto del año 2014 se hicieron recorridos de campo para recolectar muestras de sangre de animales pertenecientes a dos hatos ubicados en comunidades indígenas de la Sierra de Nayarit (Figuras 4, 5, 6 y 7) y a un hato ubicado en la región costera del mismo estado, en el Sitio Experimental “El Verdineño” del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP-SAGARPA). En total se muestrearon 87 hembras y 6 machos y se obtuvieron entre 15-20 mL de sangre por animal la cual se almacenó en refrigeración a 4 °C en tubos vacutainer™ con EDTA(k₂EDTA) como anticoagulante para evitar la desnaturalización o degradación del ADN. El proceso para la extracción del ADN se basó en el protocolo de Iranpur y Esmailzadeh (2010) y se realizó en el Laboratorio de ADN y Genómica del Centro Nacional de Recursos Genéticos (INIFAP-SAGARPA) ubicado en Tepatitlán de Morelos, Jalisco.



Figura 7. Transporte de muestras de sangre a través de la Sierra en el municipio de El Nayar.

Análisis moleculares

De las 93 muestras procesadas se seleccionaron 47 alícuotas de ADN obtenidas de animales con características de Criollo Puro (Figura 8) y se preparó una placa de dilución de ADN a una concentración de 50 ng/μl. La placa contenía 15 muestras del Sitio Experimental “El Verdineño”, 15 de Jazmines de Coyultita y 17 de Guadalupe Ocotán. Para la caracterización genotípica de marcadores SNPs mediante secuenciación masiva se envió la placa por paquetería a la compañía GeneSeek Inc. (Lincon, NE, USA), para su análisis, se empleó el chip Illumina Bovine HD-777K. Cabe señalar que el Bovine HD-777K tiene una cobertura de SNPs que han sido validados en razas de producción lechera y de carne de regiones templadas y tropicales de *Bos taurus* y *Bos indicus*. El 99% de los marcadores se encuentran mapeados en el “UMD3 bovine genome assembly”, que incluye SNPs autosomales, mitocondriales y ligados a cromosomas sexuales (X/Y).

Los SNPs se encuentran con dispersión uniforme con un promedio de 2.68 kb entre cada marcador y contiene un total de 777,962 SNPs que se seleccionaron de acuerdo a lo siguiente: a) frecuencia de alelo menor esperada por raza b) ponderación por raza c) espaciación de SNPs específica por raza d) y posición basada en región genómica. (Illumina, 2012).



Figura 8. Selección de ejemplares Criollo Coreño en el Sitio Experimental "El Verdineño" en el municipio de Santiago Ixcuintla.

Análisis Estadístico

El software Plink 1.07 (Purcell *et al.*, 2007) es una herramienta diseñada con las siguientes funciones principales. La primera es el manejo de datos, que equivale a proporcionar una forma de manejo de bases de datos de gran tamaño como lo son los estudios de genomas completos y sus asociaciones. Se genera un archivo que contiene la información en formato binario utilizando un SNP por columna y un solo individuo por fila. Posterior a esto se genera una serie de estadísticas estándar o “de resumen” que son útiles para el control de calidad de datos. Todas las estadísticas de resumen se llevan a cabo después de eliminar los individuos con altas tasas de genotipos ausentes. Por último realiza una variedad de estudios de asociación que ponen a prueba de manera eficiente bases de datos grandes. Dentro de estos estudios de asociación encontramos pruebas de valoración de los diferentes estratos en la población, estimaciones de identidad por descendencia e identidad por estado, coeficientes de consanguinidad como medidas alternativas estimados para cada individuo y escala del genoma estimaciones de identidad por estado e identidad por la ascendencia de todos los pares de individuos.

Las bases de datos obtenidas a partir de Plink 1.07 se editaron utilizando el software Microsoft Access® que representa un conjunto de programas incluidos en Microsoft Office® y que permiten el almacenamiento, modificación y extracción de la información en una base de datos, además de proporcionar herramientas para añadir, borrar y modificar estas bases de datos. De lo anterior se generaron archivos con información disponible para su análisis con el software SAS (2001) el cuál consiste en un conjunto de sub-programas que permiten realizar de manera sencilla una gran variedad de procedimientos estadísticos.

Para la genotipación de las muestras se utilizaron 777,962 marcadores ordenados en serie en la plataforma Illumina. Como resultado del control de calidad realizado en Plink 1.07, 735,177 marcadores quedaron disponibles y se consideró únicamente los SNPs de los cromosomas autosómicos, se excluyeron los marcadores ubicados en ADN mitocondrial y en los cromosomas sexuales, adicionalmente, se eliminaron 1,248 SNPs clasificados como no fundadores. A partir de la base de datos disponible que incluyó 733,929 SNPs útiles se analizaron la H_e , H_o y MAF para cada uno de los 29 cromosomas autosómicos en la población total y la Coancestría Molecular o Identidad por Estado para animales dentro de cada municipio y entre municipios.

Para calcular si los valores de H_e y H_o estimados en la población total muestreada se encontraban en equilibrio Hardy-Weinberg se utilizó la prueba estadística Chi Cuadrada de acuerdo a lo siguiente: $\chi^2_{gl} = \sum (o-e)^2/e$ donde: χ^2 = Chi cuadrada gl = grados de libertad, Σ = sumatoria, o = valor observado, e = valor esperado.

Los valores para f_{Mij} del presente estudio se estimaron mediante un análisis de genoma completo basado en agrupamientos en los que se compararon pares de individuos lo que significó comparar pares de SNPs entre cada una de las parejas. Considerando que la heterocigosidad esperada en una población de tamaño N es igual a $1-f_M$ en donde f_M es el promedio de las coancestrías moleculares por pares (f_{Mij}) (Toro *et al.*, 2014; Hayes y Goddard, 2008), con base en lo anterior se estimaron los valores de H_e poblacionales.

La análisis estadísticos se realizaron con el método de Cuadrados Mínimos Generales utilizando el procedimiento de Modelos Lineales Generales (SAS, 2001). El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \xi_{ij} \quad i=1,2,\dots,t \quad j=1,2,\dots,r$$

Donde:

Y_{ij} = variable de respuesta en tratamiento i, repetición j.

μ = Media general

t_i = Efecto del tratamiento i

ξ_{ij} = Error aleatorio $\sim N(0, \sigma^2)$

Resultados

Se identificaron tres poblaciones de Criollo Coreño de acuerdo a las características raciales reportadas por ASOCRIOLLO (2012).

Para la genotipación de las muestras se utilizaron 777,962 marcadores identificándose, en promedio, 769,963 SNPs por muestra equivalentes al 98.93 % de los SNPs disponibles en el chip, lo anterior demuestra la utilidad de la plataforma de Illumina para identificar polimorfismo en el Criollo Coreño.

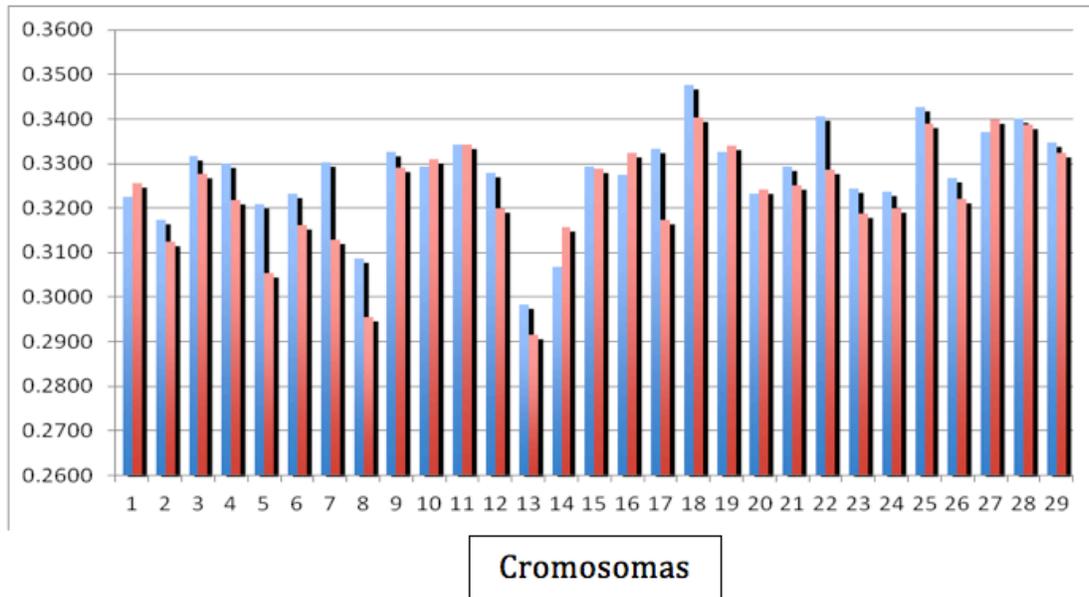
En el Cuadro 2 se presentan los polimorfismos por cromosoma mediante las medias de cuadrados mínimos para Heterocigosidad esperada (H_e), Heterocigosidad observada (H_o) y Frecuencia de Alelo Menor (MAF) considerando los 29 pares de cromosomas autosómicos de la población evaluada. Así, para el total de cromosomas los promedios fueron de 0.326, 0.322 y 0.246 para H_e , H_o y MAF, respectivamente. El rango para H_e estuvo entre 0.2982 ± 0.0010 y 0.3477 ± 0.0011 con valores máximos en los cromosomas 18 (0.3477 ± 0.0011), 25 (0.3428 ± 0.0014) y 22 (0.3405 ± 0.0012) y valores mínimos en los cromosomas 13 (0.2982 ± 0.0010), 14 (0.3067 ± 0.0010) y 8 (0.3086 ± 0.0009). Para H_o el rango estuvo entre 0.2914 ± 0.0011 y 0.3402 ± 0.0012 los valores más altos corresponden a los cromosomas 18 (0.3402 ± 0.0012), 27 (0.3398 ± 0.0014) y 25 (0.3389 ± 0.0015), y con valores mínimos en los cromosomas 13 (0.2914 ± 0.0011), 8 (0.2955 ± 0.0009) y 5 (0.3054 ± 0.0009). En relación a la variable MAF el rango estuvo entre 0.2206 y 0.2653 con valores máximos en los cromosomas 18 (0.2653 ± 0.0011), 25 (0.2613 ± 0.0013) y 28 (0.2594 ± 0.0013), y valores mínimos en los cromosomas 13 (0.2206 ± 0.0010), 14 (0.2271 ± 0.0009) y 8 (0.2276 ± 0.0008). Estos resultados permiten concluir, en general, que entre los 29 pares de cromosomas la mayor diversidad genética ocurrió en los cromosomas 18 y 25 y la menor en el cromosoma 13 con diferencias estadísticas significativas ($P < 0.001$) entre los cromosomas mencionados para H_e , H_o y MAF (Cuadro 2). Los resultados también muestran la utilidad de los SNPs para estimar diferencias en la diversidad genética entre cromosomas.

Cuadro 2. Medias de cuadrados mínimos y errores estándar para Heterocigosidad Esperada (H_e), Heterocigosidad Observada (H_o) y Frecuencia de Alelo Menor (MAF) para los 29 cromosomas autosómicos de bovinos Criollo Coreño de Nayarit.

Cromosoma	H_e	H_o	MAF
1	0.3225±0.0007	0.3256±0.0008	0.2425±0.0007
2	0.3174±0.0008	0.3124±0.0008	0.2373±0.0007
3	0.3317±0.0008	0.3276±0.0009	0.2499±0.0008
4	0.3299±0.0008	0.3218±0.0009	0.2487±0.0008
5	0.3209±0.0008	0.3054±0.0009	0.2424±0.0008
6	0.3232±0.0008	0.3163±0.0009	0.2430±0.0008
7	0.3301±0.0009	0.3129±0.0009	0.2486±0.0008
8	0.3086±0.0009	0.2955±0.0009	0.2276±0.0008
9	0.3325±0.0009	0.3291±0.0009	0.2512±0.0008
10	0.3292±0.0009	0.3309±0.0009	0.2481±0.0009
11	0.3342±0.0009	0.3342±0.0009	0.2535±0.0008
12	0.3279±0.0010	0.3198±0.0010	0.2462±0.0009
13	0.2982±0.0010	0.2914±0.0011	0.2206±0.0010
14	0.3067±0.0010	0.3157±0.0010	0.2271±0.0009
15	0.3292±0.0010	0.3288±0.0011	0.2480±0.0009
16	0.3275±0.0010	0.3323±0.0011	0.2468±0.0010
17	0.3332±0.0011	0.3173±0.0011	0.2511±0.0010
18	0.3477±0.0011	0.3402±0.0012	0.2653±0.0011
19	0.3326±0.0011	0.3340±0.0012	0.2520±0.0011
20	0.3231±0.0011	0.3241±0.0011	0.2436±0.0010
21	0.3294±0.0011	0.3250±0.0011	0.2487±0.0010
22	0.3405±0.0012	0.3287±0.0012	0.2589±0.0011
23	0.3244±0.0013	0.3187±0.0013	0.2452±0.0012
24	0.3236±0.0011	0.3199±0.0012	0.2448±0.0011
25	0.3428±0.0014	0.3389±0.0015	0.2613±0.0013
26	0.3267±0.0013	0.3220±0.0013	0.2478±0.0012
27	0.3370±0.0014	0.3398±0.0014	0.2567±0.0013
28	0.3401±0.0014	0.3387±0.0014	0.2594±0.0013
29	0.3348±0.0013	0.3323±0.0014	0.2532±0.0012
Promedio	0.326	0.322	0.246

Los resultados del presente estudio reflejaron diferencias numéricas mínimas entre los valores de H_e y H_o para los diferentes cromosomas con excepción de los cromosomas 5, 7, 8, 17 y 22, en los cuales las diferencias entre las heterocigosis fueron mayores (Figura 9).

Figura 9. H_e (azul) y H_o (rojo) en 29 cromosomas autosómicos de bovinos Criollo Coreño de Nayarit de la población total de Criollo Coreño.



Los resultados obtenidos mediante la prueba Chi cuadrada para verificar diferencias entre los promedios de H_e y H_o indicaron que la población muestreada se encontraba en equilibrio Hardy-Weinberg ($P < 0.01$). Lo anterior de acuerdo a Falconer y MacKay (1996) quienes mencionan que la heterocigosis es un estimador que permite cuantificar la variación genética mediante la estimación de frecuencias de heterocigotos en una población y que esta heterocigosis puede ser expresada como heterocigosis observada o esperada, reconociéndose que estos valores (H_e y H_o) no son significativamente diferentes cuando la población se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg.

En el Cuadro 2 se muestran las medias de cuadrados mínimos para las coancestrías estimadas, encontrándose un valor promedio de 0.131 para la coancestría poblacional, esto nos dice que los individuos de la población Criollo Coreño comparten en promedio 13% de los SNPs genotipados. En cuanto a las tres poblaciones evaluadas, los valores extremos correspondieron a las poblaciones 3 ($f_M = 0.172$) y 2 ($f_M = 0.063$) ubicadas en las regiones de la sierra de los municipios de "La Yesca" y "El Nayar", respectivamente. Por otro lado, para la población SI ubicada en la región costera del municipio de Santiago, Ixcuintla se estimó un valor de f_M de 0.146. Las coancestrías estimadas en las poblaciones en los tres municipios indicaron diferencias genéticas

entre la población EN ($P < 0.0001$) y las poblaciones SI y LY. No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre las poblaciones SI y LY. Las coancestrías del Cuadro 3 se utilizaron para estimar la H_e poblacional global (0.869) y las H_e en la población SI (0.854), población EN (0.937) y población LY (0.828) de acuerdo a la metodología de Toro *et al.*, (2014).

Cuadro 3. Medias de cuadrados mínimos para Coancestría Molecular (f_M) en tres poblaciones de bovinos Criollo Coreño de Nayarit, México (SI = Santiago Ixcuintla, EN = El Nayar y LY = La Yesca).

	SI	EN	LY	
SI	0.146±0.011	**	ns	
EN	**	0.063±0.011	**	
LY	ns	**	0.172±0.010	
Promedio global				0.131

**Diferencias estadísticas significativas con $P < 0.0001$.

^{ns}Diferencias estadísticas no significativas con $P > 0.05$.

Discusión

En relación a los resultados del presente estudio, otros autores han publicado valores de heterocigosidad similares en diferentes poblaciones *Bos taurus*. Así, en un estudio en el que se evaluaron 14 razas desarrolladas en diferentes ambientes y en donde se utilizaron 696 SNPs identificados *in silico* se reportaron rangos entre 0.318 ± 0.168 y 0.182 ± 0.203 para heterocigosidad esperada y entre 0.322 ± 0.170 y 0.188 ± 0.207 para heterocigosidad esperada insesgada. Cabe señalar que en esta evaluación la mayoría de las razas *Bos taurus* presentaron niveles de H_e más altos comparadas con la raza Sudanese Fulani (*Bos indicus*) (Gautier *et al.*, 2007). Coincidiendo con estos resultados, en un estudio en donde se evaluó la diversidad genética con base en 58 SNPs de nueve poblaciones (seis *Bos taurus* y tres *Bos indicus*) se reportaron promedios similares a los del presente trabajo para las poblaciones *Bos taurus* (0.356 para H_e y 0.338 para H_o) pero menores en las poblaciones *Bos indicus* (0.204 para H_e y 0.195 para H_o) (Lin *et al.*, 2010). Por otro lado, valores similares de H_e fueron estimados en ganado Holstein (*Bos taurus*) a partir de un análisis realizado para cuantificar la diversidad genética en dos grupos de animales. En este trabajo los autores señalan que la estimación de la diversidad mediante SNPs fue útil para identificar diferencias significativas en los 29 pares de cromosomas autosómicos de las poblaciones. En este estudio se observó una heterocigosidad esperada poblacional de 0.311 con un rango que varió entre 0.309 y 0.312, mientras que la heterocigosidad esperada promedio entre cromosomas varió desde 0.298 para el cromosoma 24 hasta 0.322 para el cromosoma 29 (Engelsma *et al.*, 2012). Los resultados reportados en los estudios previos coinciden en la existencia de menor diversidad genética en las poblaciones *Bos indicus* comparada con la diversidad genética de las poblaciones *Bos taurus*. Es importante hacer notar que las H_e estimadas en las poblaciones *Bos taurus* mencionadas en el párrafo previo coinciden con los resultados para H_e obtenidos en la población Criollo Coreño (*Bos taurus*) de Nayarit, que se presentan en este estudio.

Otros estudios también basados en el uso de SNPs han reportado valores más altos o más bajos de H_e comparados con las heterocigosidades estimadas en la población Criollo Coreño del presente estudio. Así, valores más altos de H_e fueron reportados en cinco poblaciones indígenas de Etiopía y una población de bovinos de la raza coreana Hanwoo. En el estudio mencionado la diversidad genética se evaluó con base en la genotipación de 4235 SNPs estimándose para las poblaciones indígenas promedios de H_e que variaron entre 0.370 ± 0.116 (raza Danakil) y 0.389 ± 0.106 (raza Ambo) y promedios de H_o que variaron entre 0.363 ± 0.130 (raza Danakil) y 0.387 ± 0.115 (raza Horro). Para la raza Hanwoo los promedios de H_e y H_o fueron de 0.410 ± 0.104 y 0.415 ± 0.123 , respectivamente. Los resultados del estudio indicaron una mayor diversidad genética del ganado Hanwoo (*Bos taurus*) comparada con la diversidad genética de las razas indígenas evaluadas (Edea *et al.*, 2013).

Por otro lado, valores menores en relación a los que se presentan en el presente estudio fueron publicados en un trabajo realizado para comparar poblaciones de bovinos europeas, africanas y de Cebú. En el

estudio mencionado se genotiparon alrededor de 680,000 SNPs encontrándose una heterocigosidad promedio de 0.217 para la raza Nelore (Cebú) y de 0.214 para la raza N'Dama (Africana), y un rango de heterocigosidad de 0.239 a 0.308 para las razas europeas. Independientemente de los bajos promedios de H_e reportados para las diferentes poblaciones, estos resultados coinciden con los publicado por otros autores quienes señalan una menor diversidad genética de la raza Cebú (*Bos indicus*) comparada con la diversidad genética de las razas europeas (*Bos taurus*) (Porto-Neto *et al.*, 2014).

Es importante mencionar que la información publicada sobre diversidad genética de las poblaciones bovinas criollas de México se ha basado en el uso de microsatélites. Por lo tanto al utilizar marcadores SNP los resultados del presente estudio no son comparables de manera directa con los estudios en los que se han utilizado microsatélites. Sin embargo, un punto de coincidencia entre los resultados obtenidos con ambos tipos de marcadores puede ser la comparación de la diversidad genética estimada con unos y otros. Así, se considera que la diversidad genética estimada con microsatélites es la única información disponible en los bovinos criollos de México, a continuación se revisan las H_e como referentes de la diversidad genética del bovino criollo mexicano.

Un estudio en el que se comparó la estructura genética de cuatro poblaciones de ganado criollo (*Bos taurus*) localizadas en Chihuahua, Puebla, Durango, Guerrero y Nayarit y que también incluyó la comparación con poblaciones de ganado de lidia (*Bos taurus*), Criollo Lechero Centroamericano (*Bos taurus*) y Guzerat (*Bos indicus*) reportó rangos de 0.71 ± 0.07 a 0.85 ± 0.04 y de 0.35 ± 0.07 a 0.53 ± 0.05 para heterocigosidad promedio y H_o , respectivamente (con valores específicos de 0.76 ± 0.05 y 0.52 ± 0.05 para la población criolla de Nayarit). Los resultados indicaron menor diversidad genética en la población Guzerat (*Bos indicus*) y en el ganado de lidia (*Bos taurus*) en relación a las otras razas evaluadas. En este estudio los autores concluyeron que existen niveles altos de diversidad genética en las poblaciones criollas de México y que éstas pueden ser un reservorio invaluable de diversidad genética (Ulloa-Arvizú *et al.*, 2008). De igual manera, diferentes heterocigosidades fueron estimadas a partir de un estudio que abarcó 26 razas de bovinos criollos latinoamericanos entre las cuales se incluyeron 5 poblaciones ubicadas en México. En este trabajo los autores evaluaron la diversidad genética de poblaciones criollas ubicadas en 10 países reportando valores de H_e que fluctuaron entre 0.660 ± 0.045 (para Criollo Guabalá) y 0.788 ± 0.018 (para Criollo de Nayarit) y valores de H_o que fluctuaron entre 0.629 ± 0.019 (para Criollo Patagónico) y 0.793 ± 0.013 (para Criollo Cubano). En cuanto a las poblaciones mexicanas los rangos para H_e estuvieron entre 0.760 ± 0.019 (para Criollo de Baja California) y 0.788 ± 0.018 (para Criollo de Nayarit), mientras que los rangos para H_o estuvieron entre 0.693 ± 0.016 (para Criollo Poblano) y 0.749 ± 0.021 (para Criollo de Nayarit). Los promedios globales entre las 26 poblaciones evaluadas fueron de 0.738 ± 0.045 para H_e y de 0.718 ± 0.045 para H_o , concluyendo los autores que estas razas nativas representan un importante reservorio de diversidad genética que debe ser conservado (Delgado *et al.*, 2011). Por otro lado y como parte de una investigación para conocer la huella genética del ganado Ibérico en América se utilizaron marcadores microsatélites para estimar la diversidad genética de 27 poblaciones criollas (entre las que se incluyeron poblaciones criollas de México), 39 poblaciones ibéricas, 5 poblaciones británicas, 4 poblaciones de Europa

continental y 6 poblaciones cebú. Entre los resultados publicados los autores mencionan promedios globales de 0.711 para H_e y de 0.688 para H_o , mientras que los promedios de los diferentes parámetros estimados para grupos de razas mostraron a las poblaciones criollas como las poseedoras de los niveles más altos de diversidad genética con promedios de 0.805 ± 0.014 para H_e , y de 0.719 ± 0.004 para H_o , contrastando con los promedios estimados para el grupo de razas británicas (0.754 ± 0.015 , y 0.653 ± 0.008 para H_e y H_o , respectivamente) y el grupo de razas cebú (0.735 ± 0.026 y 0.654 ± 0.009 para H_e y H_o , respectivamente). Entre las conclusiones del estudio los autores mencionan las amplias diferencias encontradas entre la estructura genética de las poblaciones criollas remarcando que el conocimiento de estas diferencias facilitará el desarrollo de estrategias para la conservación local y global de la diversidad genética existente en estas poblaciones (Martínez *et al.*, 2012). Cabe mencionar que establecer estrategias de conservación implica definir el valor de las poblaciones susceptibles de ser conservadas. Considerando lo anterior y para priorizar la conservación de poblaciones se realizó un análisis en el que se incluyeron 67 razas de bovinos Iberoamericanos ponderando su contribución a la diversidad genética global mediante análisis con microsatélites. Cabe mencionar que entre las razas evaluadas se incluyeron poblaciones criollas mexicanas localizadas en Baja California, Chihuahua, Nayarit y Puebla con heterocigosidades promedio de 0.719 ± 0.053 para H_o y de 0.739 ± 0.049 para H_e . En lo general, el estudio concluyó que las poblaciones criollas retienen niveles importantes de diversidad genética y que algunas de estas poblaciones, ubicadas en localidades aisladas, son reservorios importantes de diversidad genética (Ginja, *et al.*, 2013). En concordancia con los estudios previos, un análisis con marcadores microsatélites realizado para evaluar la estructura genética poblacional de vacas de la raza Criollo Lechero Tropical estableció para esta población valores de 0.702 para H_e y de 0.639 para H_o concluyendo los autores del estudio que el Criollo Lechero Tropical es una raza con gran diversidad genética que presenta diferencias genéticas importantes con las razas Brahman y Gyr (*Bos indicus*) (Canales *et al.*, 2014). Por otro lado, una evaluación realizada utilizando microsatélites para evaluar la diversidad genética de la raza Criollo Limonero de Venezuela, reportó un valor promedio de 0.602 para H_o con valores mínimo y máximo de 0.278 y 0.787 para el mismo parámetro, mientras para H_e el promedio y los valores mínimo y máximo fueron de 0.689, 0.355 y 0.870, respectivamente. Con base en los niveles de heterocigosidad estimados los autores concluyen que existe una alta diversidad molecular en la raza Criollo Limonero recomendando su conservación como un recurso genético valioso para la producción animal en regiones tropicales (Villasmil-Ontiveros *et al.*, 2008).

De la revisión anterior y coincidiendo con los estudios realizados con SNPs, los estudios basados en microsatélites también señalan a las poblaciones de bovinos criollos como poblaciones con niveles altos de diversidad genética cuya conservación es importante (Ulloa-Arvizú *et al.*, 2008; Delgado *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2012; Ginja, *et al.*, 2013).

Con respecto a los promedios para MAF obtenidos en el presente estudio, éstos son mayores a los reportados en otros análisis realizados también involucrando poblaciones *Bos taurus*. Así, un trabajo en el que se evaluaron dos métodos para estimar la diversidad genética en bovinos Holstein reportó promedios globales MAFs de 0.228 y 0.236 para los dos grupos analizados (promedios menores al promedio global MAF (0.246) del presente trabajo). En el mismo estudio se analizó la diversidad a nivel de cromosoma considerando todos los pares de cromosomas, encontrándose una alta diversidad en el cromosoma 26 que se reflejó en una diferencia de 0.0148 entre las MAFs de los dos grupos para el cromosoma mencionado. La menor diversidad genética se detectó en el cromosoma 30 de acuerdo a la diferencia entre las MAFs (0.0004) de los dos grupos para el cromosoma citado (cromosoma sexual, excluido en nuestro estudio) (Engelsma *et al.*, 2012). Por otro lado, en un estudio en el que se analizó la información de seis razas *Bos taurus* también se reportaron promedios de MAFs menores a los promedios del Criollo Coreño que se muestran en el Cuadro 1. Así, para las seis razas evaluadas los valores extremos de MAFs fueron de 0.191 (raza Hanwoo) y 0.224 (raza Charolais) mientras que para las razas restantes los promedios fueron de 0.210 (raza Limousin), 0.212 (raza Angus), 0.215 (raza Holstein) y 0.223 (raza Simmental), detectándose diferencias estadísticas ($P < 0.001$) entre las MAFs de todas las razas evaluadas. En general, los autores del estudio concluyen que los patrones observados en las razas analizadas sobre la variabilidad de las frecuencias alélicas son señales de selección natural y artificial ocurridas en el pasado y ocurriendo en el presente (Dadi *et al.*, 2012). En contraste con los resultados previos, promedios para MAFs mayores a los estimados en la población Criollo Coreño (Cuadro 1) fueron reportados en un estudio en el que se compararon cuatro grupos de razas agrupadas de acuerdo a su origen. Es importante mencionar que en este estudio los promedios MAFs fueron de 0.31 para el grupo de razas europeas, de 0.30 para la raza Hanwoo y de 0.30 para la raza N'Dama, reportándose un promedio más bajo para la raza *Bos indicus* (0.27). En general, los autores señalan que los resultados del estudio indicaron una menor diversidad genética de la raza *Bos indicus* comparada con la diversidad genética de las razas *Bos taurus* (Porto-Neto *et al.*, 2014). Cabe señalar que de acuerdo a la literatura revisada y considerando los resultados para MAF del presente estudio, el ganado Criollo Coreño se ubica como una población con mayor diversidad genética en comparación a otras poblaciones *Bos taurus* (ninguna criolla) en los artículos revisados.

Conclusiones

1. La estimación de los parámetros básicos mediante el uso de SNPs con plataformas de alta densidad se basó en la utilización del 98.93 % de los SNPs disponibles en el chip, lo anterior demuestra la utilidad de la plataforma para identificar diversidad genética en la raza Criollo Coreño.
2. Los valores obtenidos de H_o y H_e indican que las poblaciones Criollo Coreño mantienen altos niveles de diversidad genética cuya conservación es importante tanto *ex situ* como *in situ* puesto que éstas poblaciones se consideran un reservorio invaluable de diversidad genética.
3. En general y de acuerdo a la literatura revisada, las MAF estimadas en el presente estudio señalan a las poblaciones Criollo Coreño con mayor diversidad genética comparadas con otras poblaciones *Bos taurus* (ninguna criolla).
4. De acuerdo a la coancestría molecular estimada existen diferencias significativas entre las poblaciones Criollo Coreño. Las diferencias mencionadas señalan que, en términos de diversidad genética, las tres poblaciones muestreadas se pueden considerar en la práctica como dos poblaciones. Conocer lo anterior contribuye al diseño de estrategias eficientes para la conservación y el manejo de las poblaciones estudiadas.

Literatura citada

1. Alexander, D.H., Novembre J., and Lange K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. 19,1655–1664 ISSN 1088-9051/09; www.genome.org.
2. ASOCRIOLLO. (2012). Asociación de Criadores de Ganado Criollo Mexicano A.C. Tipificación del ganado Criollo mexicano.
3. Bamshad, M., Wooding, S., Salisbury, B. A. y Stephens, C. (2004). Deconstructing the relationship between genetics and race. *Nature Reviews Genetics*. 5, 598-609.
4. Barrett, J. C, Fry, B., Maller, J., and Daly, M. J. (2005). Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. 21 (2),263–265.
5. BIF. (2010). Guidelines for uniform beef improvement programs. Ninth Edition. www.beefimprovement.org
6. Bogucki, P. (1996). The spread of early farming in Europe. *Am. Sci.* 84, 242-253.
7. Canales, A. M., Cervantes, P., Hernández, A., Martínez, A., Landi, V., Delgado, J.V., López, B.A., Domínguez, B., Olmos, A., Valdés, M. (2014). Caracterización genética de vacas de la raza criollo lechero lechero tropical en Veracruz, México. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*. Vol 4,74-76.
8. Castañeda, C. (1968). Las enseñanzas de don Juan. México. Fondo de cultura económica.
9. Dadi, H., Jong-Joo, K., Duhak, Y. and Kwan-Suk, K. (2012). Evaluation of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) Genotyped by the Illumina Bovine SNP50K in Cattle Focusing on Hanwoo Breed. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 25(1),28-32.
10. De Alba Martínez, Jorge. (2011). El libro de los Bovinos Criollos de América. México. Ediciones papiro omega, S.A. de C.V.
11. Delgado, J. V., Martínez, A. M. , Acosta, A., Álvarez, L. A., Armstrong, E., Camacho, E., Cañón, J. Cortés, O., Dunner, S., Landi, V., Marques, J. R., Martín-Burriel, I., Martínez, O. R., Martínez, R. D. , Melucci, L., Muñoz, J. E., Penedo, M. C. T., Postiglioni, A., Quiroz, J., Rodellar, C., Sponenberg, P. Uffo, O., Ulloa-Arvizu, R., Vega-Pla, J. L., Villalobos, A., Zambrano, D., Zaragoza, P., Gama, L. T. y Ginja, C. (2011). Genetic characterization of Latin-American Creole cattle using microsatellites markers. *Animal Genetics*. 43, 2-10.
12. Edea, Z., Dadi, H., Kim, S., Dessie, T., Lee, T., Kim, H., Kim, J. and Kim, K. (2013). Genetic diversity, population structure and relationships in indigenous cattle populations of Ethiopia and Korean Hanwoo breeds using SNP markers. *Frontiers in Genetics- Livestock Genomics*. 4(35), 1-9.
13. Engelsma, K. A., Veerkamp, R. F., Calus, M. P. L., Bijma, P. y Windig, J.J. (2012). Pedigree and marker-based methods in the estimation of genetic diversity in small groups of Holstein cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 129, 195-205.
14. Falconer D. S. y Mackay Trudy F. C. (1996) *Introduction to Quantative Genetics*. Cuarta edición. Inglaterra. Editorial Longman.
15. FAO. (2011). Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production

and Health Guidelines. No. 9. Rome.

16. Fierro, L.C y Pámanes, L.D. (1998). El ganado de Rodeo en el estado de Durango. Memorias del Segundo Foro Análisis de Recursos Genéticos: “Ganado Criollo”. Hacia el establecimiento del Programa Nacional de Recursos Genéticos Pecuarios. SAGAR. Chihuahua, México.
17. Frankham, R., Ballou, J. D. y Briscoe, D. A. (2002) Introduction to conservation genetics. Cambridge University press.
18. Gautier, M., Faraut, T., Moazami-Goudarzi, K., Navratil, V., Foglio, M., Grohs, C., Boland, A., Garnier, J. G., Boichard, D., Lathrop, G. M., Gut, I. G. y Eggen, A. (2007). Genetic and haplotypic structure in 14 european and African cattle breeds. *Genetics Society of America*. 177, 1059-1070.
19. Ginja, Catarina, Luís T Gama, Óscar Cortes, Juan Vicente Delgado, Susana Dunner, David García, Vincenzo Landi, Inmaculada Martín-Burriel, Amparo Martínez-Martínez, M Cecilia T Penedo, Clementina Rodellar, Pilar Zaragoza, Javier Cañon and BioBovis Consortium. Analysis of conservation priorities of Iberoamerican cattle based on autosomal microsatellite markers. *Genetics Selection Evolution* 2013, 45(35).
20. Groeneveld, L.F., Lenstra, J.A., Eding, H., Toro, M.A., Scherf, B., Pilling, D., Negrini, R., Finlay, E.K., Jianlin, H., Groeneveld, E., Weigend, S. (2010) Genetic diversity in farm animals a review. *Animal Genetics*, 41(1),6–31.
21. Goudarzi, K., Laloe, D., Furet, J., Grosclaude, F. (1997). Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics* 28, 338–345.
22. Gupta, P. K., Roy, J. K. and Prasad, M. (2001). Single nucleotide polymorphisms: a new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants. *Curr. Sci.* 80,524-535.
23. Hanotte, O., Toll, J., Iniguez, L., Rege, E. (2005) Why and what do we need to conserve? FAO Options and Strategies for the Conservation of Farm Animal Genetic Resources Workshop. Montpellier, Francia.
24. Hayes, B. J., Goddard, M. E. (2008). Technical note: Prediction of breeding values using marker-derived relationship matrices. *J. Anim. Sci.*, 86, 2089-2092.
25. Hedrick, P. W. (2001) Conservation genetics: where are we now? *Trends in Ecology and Evolution*. 16, 629-636.
26. Illumina (2012). BovineHD genotyping Beadchip data sheet.; http://www.illumina.com/Documents/products/datasheets/datasheet_bovineHD.pdf
27. Iranpur-Mobarakeh, V. and Esmailzadeh, A. K. (2010). Rapid Extraction of High Quality DNA from Whole Blood Stored at 4°C for Long Period Protocol Online PID: 4175. Available from: <http://www.protocol-online.org/>.
28. Kohn, M.H., Murphy, W.J., Ostrander, E.A. y Wayne, R.K. (2006). Genomics and conservation genetics. *Trends in Ecology and Evolution*, 21, 629–637.
29. Lenstra, J.A. y Bradley, D.G. (1999). Systematics and phylogeny of cattle. In: *The Genetics of Cattle* (Ed. by R. Fries & A. Ruvinsky), 1–14. Wallingford. CAB International.

30. Lin, B. Z., Sasazaki, S., Mannen, H. (2010). Genetic diversity and structure in *Bos taurus* and *Bos indicus* populations analyzed by SNP markers. *Anim. Sci. J.* 81,281–289.
31. Litt M., Luty, J. A., (1989). A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American journal of human genetics.* 44(3), 397–401.
32. MacHugh, D.E., Shriver, M.D., Loftus, R.T., Cunningham, P., Bradley, D.G. (1997). Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics.* 146(3),1071–1086.
33. MacHugh, D., Loftus, R., Cunningham, P., Bradley, D. (1998). Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers. *Animal Genetics* 29, 333–340.
34. Manikanda-Boopathi, N. (2013). Genetic Mapping and Marker Assisted Selection, basis practice and benefits. India. Editorial Springer.
35. Martínez G. (2005). El ganado bovino Criollo en Nayarit: ubicación y población estimada. Sitio Experimental “El Verdineño”. CIRPAC- INIFAP. Folleto Técnico Número 1. Nayarit, México.
36. Martínez, A. M., Gama, L. T., Cañon, J., Ginja, C., Delgado, J. V., Dunner, S., Landi1, V., Martín-Burriel, I., M. Cecilia T. Penedo, Rodellar, C., Vega-Pla, J. L., Acosta, A., Álvarez, L. A., Camacho, E., Cortés, O., Marques, J. R., Martínez, R., D. Martínez, R., Melucci1, L., Martínez-Velázquez, G., Muñoz, J. E., Postiglioni, A., Quiroz, J., Sponenberg, P., Uffo, O., Villalobos, A., Zambrano, D. y Zaragoza., P. (2012). Genetic Footprints of Iberian Cattle in America 500 Years after the Arrival of Columbus. *Plos one.* 7,11.
37. McKay, S. D., Schnabel, R. D., Murdoch, B. M., Matukumalli, L. K., Aerts, J., Coppieters, W. (2008). An assessment of population structure in eight breeds of cattle using a whole genome SNP panel. *BMC Genetics* 9,37.
38. Mctavish E. J., J. E., Decker, R. D., Schnabel, J. F., Taylor and Hillis. (2013). New world cattle show ancestry from multiple independent domestication events. *PNAS.* 1398-1406.
39. Meadow, R. H. (1993). Animal domestication in the middle east: a revised view from the Eastern margin. In *Harappan civilisation.* Editorial G. Poeseshl. Pp. 295-320. New Dehli: Oxford and IBH.
40. Mukesh, B., Sodhi, M., Bhatia, S., Mishra, B. (2004). Genetic diversity of Indian native cattle breeds as analysed with 20 microsatellite loci. *Journal of Animal Breeding and Genetics.* 121, 416–424.
41. Notter, D.R. (2005). Complementarity of Conservation Approaches. Options and Strategies for the Conservation of FAnGR, AGROPOLIS, Montpellier, France.
42. Pritchard, J. K., Stephens, M., Rosenberg, N. A., and Donnelly, P. (2000). Association Mapping in Structured Populations. *Am. J. Hum. Genet.* 67,170–181.
43. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. W., Daly, M. J., and Sham, P. C. (2007). PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *American Journal Human Genetics.* 81, 559–5753.
44. Porto-Neto, L. R., Lee, S. H., Sonstergard, T. S., Van Tassel C. P., Lee, H. K., Gibson J. P., and Gondro C. (2014). Genome-wide detection of signatures of selection in Korean Hanwoo cattle. *Animal Genetics.* 45, 180-190.

45. Rege, J. E. O., and Gibson, J. P. (2003). Animal genetic resources and economic development: issues in relation to economic valuation. *Ecological Economics*. 45,319–330.
46. Russell, N.D., Rios, J., Erosa, G., Remmenga, M.D., Hawkins, D.E. (2000). Genetic differentiation among geographically isolated populations of Criollo cattle and their divergence from other *Bos taurus* breeds. *Journal of animal science*. 78(9),2314-22.
47. SAGARPA. (2002). Informe sobre la situación de los Recursos Genéticos Pecuarios (RGP) de México. Coordinación General de Ganadería. ;www.sagarpa.gob.mx/Dgg.
48. SAS. (2001). SAS/STAT User's Guide (Release 8.2). Cary NC, USA: SAS Inst. Inc.
49. Scherf, B., Rischkowsky, B. and Hoffmann, I. (2005). Options and Strategies for the Conservation of AnGR, AGROPOLIS, Montpellier, France 9-16.
50. SIAP. (2013). <http://www.campomexicano.gob.mx/boletinsiap/019-e.html>
51. Sierra, I. (2001). El concepto de raza: evolución y realidad. *Archivos de Zootecnia*. 50, 547-564.
52. Tassell, C., Smith, T., Matukumalli, L., Taylor, J., Schnabel, R., Lawley, C., Haudenschild, C., Moore, S., Warren, W., Sonstegard, T. (2008). SNP discovery and allele frequency estimation by deep sequencing of reduced representation libraries. *Nature Methods*. 5,247–252.
53. Tautz, D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acid Research*. 17, 6463-6471.
54. Tewolde, A. (2000). Escenarios e importancia de los Criollos en América Latina ante los futuros cambios en la ganadería. Memorias del V Congreso Iberoamericano de Razas Autóctonas y Criollas. La Habana, Cuba.
55. Toro, M. A., Villanueva, B., Fernández, J. (2014). Genomics applied to management strategies in conservation programmes. *Livestock Science*.166, 48–53.
56. Ulloa-Arvizu, R., Gayosso-Vázquez, A., Ramos-Kuri, M., Estrada, F.J., Montaña, M. y Alonso, R.A. (2008). Genetic analysis of Mexican Criollo cattle populations. *Journal of animal breeding and genetics*. 125, 351–359.
57. Verrier, E., Moureaux, S., Tribout, T., Delaunay, I., Palhiere, I., Rochambeau, H., Colleau, J. (2005). Overview of the genetic variability in French selected livestock populations and management approaches Options and Strategies for the Conservation of FAnGR, AGROPOLIS, Montpellier, France 7-10 November.
58. Vignal, A., Milan, D., Sancristobal, M., Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet. Sel. Evol*. 34,275–305.
59. Villa, C. (2010). El concepto de Rusticidad. *Rev. Hereford, Bs. As. Argentina*.
60. Villasmil-Ontiveros, Y., Román-Bravo, R., Yáñez-Cuéllar, L., Contreras, G., Jordana, J., y Aranguren-Méndez, J. (2008). Genetic diversity of Limonero Creole breed using microsatellites molecular markers. *Revista Científica, FCV-LUZ* . 18(4), 415 – 423.
61. Vuure, V. (2002). History, morphology and ecology of the Aurochs (*Bos primigenius*). *Lutra* 45-1.; [Online pdf \(603 kB\)](#).

62. Vuure, V. (2005). *Retracing the Aurochs: History, Morphology and Ecology of an Extinct Wild Ox*. Pensoft Publishers. Sofia-Moscow.
63. Vu Tien Khan, J. (1983). Méthodes d'analyse des données démographiques et généalogiques dans les populations d'animaux domestiques. *Gén. Sél. Evol.* 15 (2), 263-298.
64. Weber, J., May, p. (1989). Abundant Class of Human DNA Polymorphisms, Which Can Be Typed Using the Polymerase Chain Reaction. *American journal of human genetics.* 4,388-396.
65. Zeder, M. A., Bradely, D. G., Emshwiller, E. y Smith, B. D. (2006). *Documenting Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms*. University of California Press, Berkeley/Los Angeles, CA.