



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



Universidad de Córdoba

Departamento de Genética

Tesis doctoral

**CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE  
LOS BOVINOS CRIOLLOS MEXICANOS  
Y SU RELACIÓN CON OTRAS  
POBLACIONES BOVINAS.**

---

Jorge Quiroz Valiente

2007



Dra. Amparo Martínez Martínez, Investigadora del Departamento de Genética de la Universidad de Córdoba.

INFORMA:

Que la tesis doctoral "**Caracterización Genética de los Bovinos Criollos Mexicanos y su Relación con Otras Poblaciones Bovinas**", realizada bajo mi dirección y asesoramiento por Dn. **JORGE QUIROZ VALIENTE**, reúne las condiciones y calidad científica deseadas para la defensa por parte del interesado, con vistas a optar por el Grado de Doctor.

Para que conste a los efectos oportunos firmo el presente, Córdoba, España a 17 de enero de 2007.



Dra. Amparo Martínez Martínez



## Dedicatoria

A Elisabeth, mi esposa y mis hijos  
Julio y Jorge jr.  
Que con su compañía, me recuerdan cada  
momento las cosas buenas de la vida.

A mis padres:  
Jorge Quiroz Vazquez y  
Yolanda Valiente Loranca.  
Por haberme enseñado a  
valorar el esfuerzo colectivo

A mis hermanos: Yolanda, Fernando†,  
Susana, Adriana, Gabriela y Ricardo,  
por los grandes momentos que  
he compartido junto con sus familias.



## **Agradecimientos.**

Cuando conocí a Juanvi, me preguntó acerca de las actividades que venía realizando en INIFAP y le contesté que durante los últimos años había trabajado en la región tropical de México y el objetivo fundamental se encaminaba a generar una raza sintética que incluyera la productividad de las razas europeas y la resistencia al medio ambiente de las razas cebuínas. Con la ironía que lo caracteriza me afirmo “¡ahí lo que quieren hacer es un Criollo sintético”. Ese fue mi primer contacto con la conservación de recursos genéticos de México. Gracias a esta experiencia, me involucré en la importancia que tienen las razas animales en el mundo, lo cual no hubiera sido posible, de no encontrarme con un gran equipo de trabajo, charlando animadamente con José Luis Vega, que siempre tiene la palabra justa en el momento oportuno. Él me levantaba el ánimo cuando regresaba del laboratorio frustrado porque no obtenía ningún resultado; un día, haciendo a un lado el sarcasmo, me enseñó una libreta en la que anotaba todas las experiencias que había tenido en el laboratorio cuando hizo su trabajo de tesis y constaté que se tardó aproximadamente tres años en obtener resultados. Mi gravísimo error fue quererme comparar con la mujer que fue la directora de este trabajo y todos los halagos que yo pudiera decir, son nada frente a la capacidad de organización, trabajo y criterio que tiene Amparo en todo lo que ejecuta. ¡Mi admiración por siempre!

Gracias a estas tres personas, conocí a la “Esperanza de Juanvi”, estoy seguro que Juanvi no habría hecho ni la mitad de lo que ha logrado, si no fuera porque ella está siempre a su lado. Con ellos conocí mucha gente que ha pasado por el departamento de Genética de la Universidad de Córdoba, y que de alguna forma han contribuido a mi formación, por mencionar algunos agradezco a José Manuel, Julia, Cecilio Barba, José Ribamar, los Angeles, Vallecillo y Galarza, Vincenzo Landi, Roberto Germano, Marcos Jacob, Adriana Guim, Norma Ribeiro y Víctor Rodríguez; también al equipo de Portugal dirigido por Luis Telo da Gama, Nuno Carolino, Catarina Ginja y Carolina Souza. Por otra parte, quiero agradecer a la Red XII-H CYTED (Red Iberoamericana sobre la Conservación de la Biodiversidad de los Animales Domésticos Locales para el

desarrollo Rural Sostenible), porque buena parte del material que utilicé fue producto de esta Red.

Especial mención merecen los miembros del Tribunal: Diego Llanes, Juan José Garrido, Javier Cañón, Ciro Rico y Francisco Padilla, por las observaciones hechas a este trabajo

En México, hubo personas que amablemente me apoyaron con las muestras de ADN y se los quiero agradecer: Raúl Ulloa, Arturo Estrada, Raúl Perezgrovas, a Lourdes Zaragoza y Guadalupe Rodríguez. También merecen especial mención a los ganaderos de la Asociación mexicana de Criadores de Ganado Bovino Holandocebú, quienes también aportaron muestras para la realización de mi trabajo. Dentro de INIFAP, quiero reconocer el apoyo recibido por Lorenzo Granados, Jorge Oliva y Ma. Elena Sosa y Gloria Ochoa que me ayudaron en la tramitología necesaria durante estos años.

La estancia en España fue muy rica en experiencia y afortunadamente la pudimos compartir con Justo Rivera y Familia, sin duda la compañía que nos dimos llegó a ser fundamental para disfrutar en la lejanía de México con las grandes discusiones sobre la Agroecología.

Finalmente, agradeciendo a la vida que me diera la oportunidad de compartirla con Elisabeth, no me cansaré nunca de aceptar que lo mejor de mi vida es ella, que siempre tiene una palabra amorosa, o una llamada de atención para cuando es necesario. Y nuestra vida se llena con los dos pequeños que son producto de nuestro amor: Julio y Jorge Jr.

Solo con el corazón se puede ver bien, aunque escribir, en mi caso no tanto.



# ÍNDICE

---

I. <b>CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LOS BOVINOS CRIOLLOS MEXICANOS Y SU RELACIÓN CON OTRAS POBLACIONES BOVINAS.</b> .....	1
II. <b>ÍNDICE</b> .....	1
INDICE DE TABLAS .....	5
INDICE DE FIGURAS.....	7
III. <b>RESUMEN.</b> .....	9
IV. <b>ABSTRACT</b> .....	11
V. <b>INTRODUCCIÓN.</b> .....	13
Objetivos.....	14
VI. <b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	15
Concepto de raza. ....	15
Origen filogenético de los bovinos domésticos. ....	16
Clasificación zoológica .....	16
Análisis genético del origen de la domesticación de los bovinos. ....	17
Los bovinos Criollos en América.....	19
Origen de los Bovinos Criollos Mexicanos. ....	21
El Comercio de Canarias a América .....	21
Desarrollo de la ganadería en México. ....	22
Cultura ganadera.....	23
Primer Periodo.....	23
Segundo Periodo.....	24
Tercer periodo .....	25
Introducción de nuevas razas. ....	25
Bovinos Criollos Mexicanos. ....	27
Criollo de Baja California. ( <i>Chinampo</i> ). ....	27
Ganado Criollo de Chihuahua. ....	27
Criollo de Chiapas .....	28
Criollo de Nayarit. De la Sierra Madre Occidental (Coreño). ....	29
Criollo Poblano. Mixteco.....	29
Bovinos Criollos Suramericanos. ....	29
Criollo Argentino. ....	29
Criollo Patagónico. ....	30
Criollo Uruguayo.....	30
Criollo Colombiano Casanare.....	30
Razas Españolas. ....	31
Berrenda en Negro. ....	31

Berrenda en Colorado .....	31
Marismeña.....	32
Pajuna.....	32
Canaria.....	32
Palmera.....	33
Razas Exóticas.....	33
Holstein.....	33
Suizo Pardo.....	33
Hereford.....	34
Razas Cebuinas.....	34
Brahman.....	34
Gyr.....	34
Nelore.....	34
Holandocebu.....	35
<b>Diversidad Genética.....</b>	<b>35</b>
Estructura genética de las poblaciones .....	36
Importancia de la caracterización de los recursos genéticos.....	36
<b>Identificación de las poblaciones bovinas a conservar.....</b>	<b>38</b>
<b>Los marcadores moleculares en la caracterización genética.....</b>	<b>39</b>
RFLP (Restriction Fragment Site Length Polymorphism).....	40
AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).....	40
RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).....	41
Minisatélites de ADN.....	41
SNP's (Single nucleotide polymorphisms).....	42
<b>Microsatélites.....</b>	<b>42</b>
Distribución de los microsatélites.....	43
Mecanismos de mutación de los microsatélites.....	44
Modelos de mutación.....	45
Extracción de ADN para microsatélites.....	46
Reacción en cadena de la polimerasa.....	46
Componentes de la PCR.....	47
Métodos de detección de la variación genética en ADN amplificado.....	47
<b>Errores en la tipificación de microsatélites.....</b>	<b>48</b>
<b>Análisis Estadístico.....</b>	<b>50</b>
Tamaño de Muestra.....	50
Frecuencias Génicas o Alélicas.....	51
Frecuencias Genotípicas.....	51
Heterocigosidad.....	51
Heterocigosidad observada.....	52
Diversidad genética o Heterocigosidad esperada.....	52
Contenido de Información Polimórfica (PIC).....	53
Equilibrio Hardy-Weinberg.....	53
Desviaciones del Equilibrio Hardy-Weinberg.....	53
Pruebas para calcular la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg.....	54
Test exacto o de probabilidad de Fisher.....	55
Estadísticos F.....	55
Cálculo de índices de fijación (estadísticos F).....	55
Análisis Molecular de Varianza (AMOVA).....	57
Prueba de Hipótesis.....	59
Distancias genéticas entre poblaciones.....	59
F <sub>ST</sub> como distancia genética.....	61
Árboles Filogenéticos.....	62
Métodos basados en una matriz de distancia.....	63
Método de mínima evolución.....	63
Método Neighbor-Joining (NJ).....	63
Métodos de re-muestreo.....	64
Bootstrap.....	64

Jackknife.....	64
Permutación de caracteres.....	64
“Cuello de Botella” .....	64
Programa computacional utilizado para detectar “Cuello de botella” .....	66
Análisis Multivariado.....	67
Análisis Factorial de Correspondencia.....	67
Asignación de Individuos a Poblaciones a partir de Técnicas Moleculares. ....	69
Consideraciones sobre los métodos de asignación.....	71
<b>VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>73</b>
<b>Material Animal.....</b>	<b>73</b>
Obtención de muestras. ....	73
Preparación de muestras .....	74
<b>Análisis de Laboratorio .....</b>	<b>74</b>
Microsatélites caracterizados.....	74
Amplificación por PCR. ....	76
Material.....	78
Elaboración del gel.....	78
Electroforesis y tipificación de las muestras .....	78
<b>Análisis Estadístico. ....</b>	<b>80</b>
<b>VIII. RESULTADOS.....</b>	<b>83</b>
<b>Diversidad genética .....</b>	<b>83</b>
Número de alelos. ....	83
Contenido de Información Polimórfica (PIC) y Heterocigosidad Observada .....	83
Medidas de Variabilidad Genética en todas las poblaciones.....	85
Equilibrio Hardy-Weinberg .....	85
Estadísticos F en los Criollos Mexicanos.....	88
Estadísticos F en todas las poblaciones. ....	88
Cuello de Botella de las poblaciones Criollas Mexicanas.....	90
<b>Diferenciación genética de las poblaciones .....</b>	<b>91</b>
Análisis Factorial de Correspondencia.....	91
Diferenciación Genética entre las Poblaciones Criollas Mexicanas. ....	93
Diferenciación Genética entre las Poblaciones Criollas Mexicanas y las demás.....	94
<b>Distancias Genéticas. ....</b>	<b>95</b>
<b>Árboles Filogenéticos.....</b>	<b>100</b>
<b>Asignación de individuos a poblaciones con métodos multilocus.....</b>	<b>106</b>
Estructura de la Población Criolla Mexicana.....	110
Influencia de Cebú en los Criollos de México. ....	111
Estructura de todas las poblaciones del estudio.....	112
Estimación del número de poblaciones (K).....	114
Estructura de las Poblaciones.....	114
<b>IX. DISCUSIÓN. ....</b>	<b>117</b>
<b>Variabilidad Genética.....</b>	<b>117</b>
Número de Alelos. ....	117
Heterocigosidad Observada, Esperada y PIC. ....	118
Equilibrio Hardy-Weinberg. ....	118
<b>Estadísticos F en los Criollos Mexicanos .....</b>	<b>119</b>
<b>Estadísticos F en todas las poblaciones.....</b>	<b>120</b>
<b>Cuello de botella. ....</b>	<b>120</b>
<b>Diferenciación Genética .....</b>	<b>121</b>
Análisis Factorial de Correspondencia.....	121

Diferenciación Genética de las poblaciones Criollas Mexicanas.....	122
Diferenciación Genética entre las Poblaciones Criollas Mexicanas y las demás.....	123
<b>Distancias genéticas</b> .....	<b>123</b>
<b>Árboles filogenéticos</b> .....	<b>124</b>
<b>Asignación de individuos a poblaciones con métodos multilocus</b> .....	<b>125</b>
Estructura de la Población Criolla Mexicana.....	125
X. <b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>129</b>
XI. <b>LITERATURA CITADA</b> .....	<b>131</b>

**INDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Condiciones estándar para la concentración de los componentes para la amplificación por PCR .....	47
Tabla 2. AMOVA para datos genotípicos con varios grupos de poblaciones.....	58
Tabla 3. Poblaciones analizadas, número de animales (n), especie, muestra y origen	73
Tabla 4. Nombre del microsatélite, cromosoma (Cro) de localización, secuencia de los cebadores utilizados y rango del tamaño de los alelos .....	75
Tabla 5. . Condiciones de amplificación de los microsatélites .....	76
Tabla 6. Contenido de Información Polimórfica (PIC) y Heterocigosidad Observada por loci y por población. ....	84
Tabla 7. Heterocigosidad esperada, observada, total de alelos, número medio de alelos y Fis para todas las poblaciones.....	85
Tabla 8. . Equilibrio Hardy-Weinberg de los microsatélites por población .....	87
Tabla 9. Resultados de los estadísticos F por locus en las poblaciones Criollas Mexicanas .....	89
Tabla 10. . Resultados de los estadísticos F por locus en todas las poblaciones.....	90
Tabla 11. Evaluación de cuello de botella bajo el modelo T.P.M en las poblaciones Criollas Mexicanas.....	91
Tabla 12. Partición de la Variabilidad Genética de acuerdo a diferentes grupos de estructura.....	94
Tabla 13. Variación Genética entre Grupos y entre poblaciones dentro de grupo.....	95
Tabla 14. Distancia de Nei $D_A$ (arriba de la diagonal) y Distancia estándar de Nei $D_S$ debajo de la diagonal).....	97
Tabla 15. Distancia de Reynolds (arriba de la diagonal) y Cavalli-Sforza y Edwards (debajo de la diagonal) .....	98
Tabla 16. Número de migrantes (arriba de la diagonal) y $F_{st}$ por poblaciones apareadas (debajo de la diagonal). ....	99
Tabla 17. Análisis de Correlación entre las distancias genéticas $D_A$ , $D_S$ , Cavalli Sforza, Reynolds, $F_{st}$ para poblaciones apareadas y Número de migrantes.....	99
Tabla 18. Porcentaje de individuos asignados correctamente a la población correspondiente por el criterio bayesiano de Rannala y Mountain (1997) .....	107
Tabla 19. Porcentaje de individuos asignados correctamente a la población correspondiente por el criterio bayesiano de Baudouin y Lebrun (2001) .....	108
Tabla 20. Porcentaje de individuos asignados correctamente a la población correspondiente por el criterio de frecuencias Paetkau y col. (1995) .....	109
Tabla 21. Probabilidad estimada a posteriori de K para los datos de Criollo Mexicano y Palmera .....	110
Tabla 22. Proporción de asignación a cada población a cada cluster cuando $K=5$ . ..	111
Tabla 23. Probabilidad estimada a posteriori de K para todas las poblaciones estudiadas (n=22). ....	114



**INDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Etapas de introducción de la población bovina en México durante los siglos XVI a XVIII .....	23
Figura 2. Superficie de respuesta del error estándar del Fst contra el tamaño de muestra y número de loci analizados .....	51
Figura 3. Condiciones de electroforesis para visualización de los microsatélites .....	77
Figura 4. Análisis de Correspondencia de las poblaciones Criollas Mexicanas.....	91
Figura 5 Análisis Factorial de Correspondencia de todas las poblaciones .....	92
Figura 6. Análisis de Correspondencia de la poblaciones <i>Bos taurus</i> .....	93
Figura 7. Árbol filogenético de la distancia $D_A$ de Nei construido por el método UPGMA .....	101
Figura 8. Árbol filogenético de las distancias de Reynolds construido por el método Neighbor-Joining.....	102
Figura 9. Árbol filogenético de las distancias $D_A$ de Nei construido por el método UPGMA .....	103
Figura 10. Árbol filogenético de las distancias $D_S$ de Nei construido por el método Neighbor Joining.....	104
Figura 11. Árbol filogenético de la distancias de Cavalli Sforza y Edwards construido con el método Neighbor Joining.....	105
Figura 12. Poblaciones criollas detectadas por el método de Pritchard y col. (2000).	111
Figura 13. Porcentaje de cruzamiento con Cebú detectado en las Poblaciones Criollas con el programa de Pritchard y col. (2000) .....	112
Figura 14. Proporción de individuos asignados a cada población con el programa de Pritchard y col. (2000).....	113
Figura 15. Análisis de la estructura de las poblaciones bovinas de K=2 a K=6 con el programa de Pritchard y col. (2000).....	115
Figura 16. Análisis de la estructura de las poblaciones bovinas de K=7 a K=14 con el programa de Pritchard y col. (2000).....	116

---





## RESUMEN.

---

Los Bovinos Criollos de México, después de su introducción en México durante el siglo XVI se manejaron en forma asilvestrada, tuvieron distintos niveles de migración y también se han modificado con la introducción de genotipos en las razas importadas en épocas más recientes. Los objetivos del trabajo son: caracterizar genéticamente 5 poblaciones del Bovino Criollo Mexicano, determinar la distancia genética de las poblaciones de Criollo Mexicano con algunas razas españolas y cebuinas, determinar la posible influencia de razas europeas y cebuinas en los Bovinos Criollos Mexicanos, así como las relaciones genéticas entre ellas y otras poblaciones Criollas de Latinoamérica. Se utilizaron muestras de 22 poblaciones bovinas, 18 de *Bos taurus*: 5 de Criollos Mexicanos, 4 de Criollos sudamericanos, 1 raza Británica y 8 europeas continentales (dentro de estas, 6 españolas); de *Bos indicus* 3 y una raza sintética cruce de Holstein y Cebú. Se estudiaron 27 microsatélites y se determinó la variabilidad *intra* e *inter* poblacional, se determinaron las relaciones genéticas entre poblaciones y se analizó su estructura. Los Bovinos Criollos Mexicanos muestran una estructura genética común que podría considerarse como uniforme, con algunas diferencias en cada región geográfica, producto de la introgresión de otras razas, que a pesar de ello, no los hace perder su identidad. Las razas mexicanas se muestran especialmente cercanas genéticamente a las poblaciones criollas latinoamericanas estudiadas y su similitud con las poblaciones españolas es ligeramente mayor que al de las razas exóticas, quedando más distantes de las poblaciones de bovino Canarias y muy diferentes a las cebuinas, aunque existe cierta influencia de estas razas en algunas regiones de México. La Asociación de Criadores de Ganado Criollo Mexicano, podría incorporar al libro genealógico animales provenientes de todo el territorio mexicano donde aun existen bovinos Criollos, lo que permitiría aumentar el tamaño de la población con posibilidad de hacer programas de selección para varias características zootécnicas.



## ABSTRACT

---

After their introduction in Mexico in the XVI century, Creole Bovines were handled in a feral way. They had different migration levels and in more recent times, have also been modified with the introduction of genotypes from imported breeds. The objectives of this study are: To genetically characterize the 5 population groups of Mexican Creole Bovines, to determine the genetic distance between them and selected Spanish and Zebu breeds, to determine the possible influence of European and Zebu breeds in Mexican Creole Bovines and to determine the genetic relationships amongst themselves and with other creoles in Latin America. Samples from 22 bovine populations were used in this study: 18 from *Bos taurus*, 3 from *Bos indicus* and one from a synthetic Holstein-Zebu mixed breed. The 18 *Bos taurus* samples included: 5 from Mexican Creoles, 4 from South American Creoles, 1 British breed and 8 continental European (including 6 Spanish population groups). 27 DNA microsatellites were studied. The intra and inter population variability was determined as well as the genetic relationships amongst the population samples and their structure was analyzed. The Creole Mexican Bovines show a common genetic structure that could be considered as uniform, with some variations in each geographical region as a result of introgression from other breeds which, in spite of this, has not made them lose their identity. Genetically the Mexican breeds are especially close to the Latin American Creole populations studied. Their similarity with Spanish populations is slightly larger than that with exotic breeds, remaining distant from the Canary Bovine populations and significantly different from the Zebu breeds, although some influence from those breeds was detected in several regions of Mexico. The "Asociación de Criadores de Ganado Criollo Mexicano" could incorporate animals from all the Mexican territory where Creole bovines still exist to its genealogical breed registry. This would allow increasing in the population size with the possibility to start selection programs for diverse zootechnical characteristics.



# INTRODUCCIÓN.

---

Actualmente las poblaciones de animales domésticos Latinoamericanos han adquirido una valorización como reservorios de diversidad. En México, debido a la inexistencia de bovinos americanos, fue hasta la llegada de los colonizadores que se introdujeron los primeros bovinos (*Bos taurus*). Sin embargo, a finales del siglo XIX y principios del XX se introdujeron las razas exóticas en muchas regiones (Guevara y Lira-Noriega, 2004), en donde prácticamente eliminaron las poblaciones que le sirvieron como base. Posteriormente, la gran adaptabilidad de los cebuínos (*Bos indicus*) a los ambientes hostiles, hizo que desde principios del siglo XX se introdujeran en gran cantidad, lo que a la postre, desplazó a las poblaciones de los primeros bovinos europeos (conocidos genéricamente como “Criollos”) a las regiones más apartadas y de menor acceso del territorio mexicano.

Las cruces que componen a la ganadería bovina mexicana tienen en su mayoría razas especializadas con algún componente cebuino, aunque también existen algunos núcleos de bovinos Criollos en áreas específicas de difícil acceso.

La producción bovina ocupa cerca del 60% del territorio nacional ([http://www.siap.sagarpa.gob.mx/Publicaciones/Archivos/n\\_Pecuaria.pdf](http://www.siap.sagarpa.gob.mx/Publicaciones/Archivos/n_Pecuaria.pdf)), pero su participación en el Producto Interno Bruto (PIB), no llega al 2%. El PIB de la ganadería junto con la agricultura, silvicultura, caza y pesca, durante el año 2005 se estimó que alcanzó el 3.7%, y en él participa el 16% de la población económicamente activa. (<http://www.inegi.gob.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/Boletines/Boletin/Comunicados/PIB%20a%20precios%20corrientes/2005/noviembre/cuadro.xls>). Las exportaciones del sector agropecuario han aumentado a una tasa de 2.9% anual de 1989 a 2002 y en el mismo periodo las importaciones del sector han aumentado 9% anual <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/modelos/indmacro/Archivos/ingrrural89-02.zip>.

Por otra parte, la variedad de ecosistemas y de sistemas de producción hacen a México un país con una gran riqueza en recursos zoogenéticos que no han sido caracterizados. Algunas poblaciones criollas son parte importante del sustento de familias campesinas y en eso radica su importancia. La riqueza genética que podría estar mantenida en esas poblaciones no ha sido contrastada con las poblaciones bovinas comerciales existentes, por lo que es necesario hacer una descripción genética de las mismas. Se han realizado esfuerzos aislados en la caracterización de los Bovinos Criollos de México. En las poblaciones de la región mixteca se ha caracterizado la morfometría (Méndez Mendoza y col., 2002), los perfiles hemáticos (Serrano y col., 2004) y la calidad de las canales (Núñez González y col., 2005), en Chihuahua la caracterización genética con marcadores microsatélites (Russell y col., 2000), en Baja California Sur, un estudio zoométrico (Espinoza-Villavicencio, 2004) y en Nayarit la estimación de diferencias entre efectos raciales Criollo y Guzarat sobre el comportamiento de sus crías en corral de engorda y para características de la canal (Martínez Velázquez y col., 2006). Recientemente Ulloa (2001), realizó un estudio incluyendo poblaciones de Bovinos Criollos de Guerrero, Nayarit, Durango y Chihuahua con 8 microsatélites.

Una de las características en una secuencia de ADN es su variabilidad, los bovinos difieren uno de otro, en un par de bases cada cientos de ellas. Esta variación es

manifiesta también en las secuencias de las proteínas (ejemplo los grupos sanguíneos). Debido a la acumulación de tales variaciones hay diferencias entre animales, que se manifiesta como el fenotipo.

Las secuencias de ADN microsatélites han mostrado que son de gran utilidad en la caracterización de las poblaciones animales, donde se puede llegar a conclusiones sobre la relación o distancia genética existente. La descripción de las poblaciones, desde el punto de vista de la conservación de los recursos genéticos, debe hacerse comparándolas con poblaciones cercanas genéticamente, que permitan detectar la singularidad de las mismas, y así evitar duplicidad y despilfarro de recursos.

Desde el punto de vista genético, las poblaciones aisladas despiertan gran interés porque las frecuencias génicas dependen del ambiente particular en que se desenvuelven. El aislamiento puede ser geográfico o cultural o una combinación de ambos, y les ha impedido tener algún intercambio genético con otras poblaciones.

La genética de poblaciones estudia la variación polimórfica en las poblaciones biológicas, para ello es necesario conocer su estructura; está definida por la estructura alélica (frecuencias alélicas) y la estructura genotípica (frecuencias genotípicas). Teóricamente una población se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg si se cumplen ciertos supuestos: apareamiento aleatorio, no-mutación, no-migración y tamaño grande de la población. En la práctica estos preceptos raramente se cumplen; no existen poblaciones infinitamente grandes y por otro lado la panmixia no es posible; después de un reducido número de generaciones la energía necesaria para que exista un apareamiento aleatorio con los individuos más distantes sobrepasa el sistema haciéndolo imposible, esto sin incluir la selección natural que también subdivide la población (Arcos-Burgos y Muenke, 2002). Este fenómeno provoca heterogeneidad geográfica a menos que la población investigada sea demasiado pequeña. Además, la tasa de mutación en varios *loci* es suficiente para producir un alto nivel de diversidad en corto tiempo (Kimura y Ota, 1971). Estos autores establecen que la mayoría de los cambios en la estructura genética de una población a nivel molecular, son causados por la deriva génica actuando sobre *loci* neutros expuestos a una recurrente mutación. En el caso de las poblaciones de Bovinos Criollos de México, después de su introducción, su número se incrementó y se manejaron en forma asilvestrada, poblando todo el territorio mexicano; tuvieron distintas formas de migración y también se han modificado con la introducción de los nuevos genotipos en las razas importadas en épocas más recientes. La incorporación de material genético de animales que se han logrado adaptar a las condiciones prevalecientes, ha hecho de las poblaciones criollas una mezcla genética en proporciones únicas. Como consecuencia, cuando las poblaciones se comparan, sus frecuencias alélicas tienden a ser similares a las de poblaciones próximas y se van diferenciando conforme la distancia geográfica se incrementa.

## **Objetivos**

Los objetivos del trabajo son:

- a) Caracterizar genéticamente algunas poblaciones del Bovino Criollo Mexicano
- b) Determinar la distancia genética de las poblaciones de Criollo Mexicano con algunas razas españolas y cebuinas.
- c) Determinar la posible influencia de razas europeas y cebuinas en los Bovinos Criollos Mexicanos
- d) Determinar las relaciones genéticas del Bovino Criollo Mexicano con otras poblaciones criollas de Latinoamérica.

# REVISIÓN DE LITERATURA

---

## **Concepto de raza.**

El término de raza probablemente provenga de la palabra francesa *rasse* y la italiana *razza*, las que se traducen como casta o cepa. Es difícil determinar cuando se utilizó por primera vez para referirse a diferencias entre poblaciones humanas o animales. Algunos autores piensan que el término se diseminó en Europa durante los siglos XVI y XVII.

El concepto de raza es una forma simplificada de nombrar poblaciones que tienen caracteres comunes, que los distinguen de otros de su especie y se transmiten a su descendencia. Sin embargo, existen varias definiciones que van desde los clásicos como *Raza es un concepto técnico-científico, identificador y diferenciador de un grupo de animales, a través de una serie de características (morfológicas, productivas, psicológicas, de adaptación, etc.) que son transmisibles a la descendencia, manteniendo por otra parte una cierta variabilidad y dinámica evolutiva* (Sierra, 2001). LA FAO (Zaid y col., 2004) por otra parte, la define como: "Grupo subespecífico de ganado con características externas definibles e identificables que permiten separarlo por apreciación visual de otros grupos de la misma especie definidos de forma análoga". Otra en el mismo glosario es: "Grupo de ganado para el cual la separación geográfica y/o cultural con respecto a otros grupos fenotípicamente similares ha supuesto la aceptación de su diferente identidad".

Existen otras más científicas basadas en los estudios del genoma como son "una población de organismos que se diferencian de otros de la misma especie en la frecuencia de características heredables". O como la que menciona Cavalli Sforza "*En este sentido la raza no es un término técnico. La raza es a menudo aceptada más como un concepto cultural que técnico*". Hay más variación entre miembros de una raza que entre dos razas distintas (Cavalli-Sforza y Feldman, 2003).

Dada la controversia que existe en el concepto de raza, en el caso de la conservación de recursos genéticos, el criterio para su conservación debiera ser su singularidad, basándose en la adaptación del genotipo a su ambiente. Para ello, se requiere de la caracterización genotípica de las poblaciones pequeñas en ambientes hostiles o extremos.

La investigación de las diferencias biológicas entre poblaciones que son definidas o identificadas como razas, se ha intensificado conforme se ha incrementado la caracterización de polimorfismos genéticos asociados a fenotipos. Esto es debido a que las similitudes fenotípicas no siempre indican que las poblaciones son iguales o similares desde el punto de vista genético. En general, las poblaciones están más relacionadas genéticamente conforme están más próximas geográficamente (Bamshad y col., 2004). Aunque generalmente se ordenan los individuos o poblaciones por su apariencia física, las relaciones son más estrechas si se considera como criterio de clasificación la distancia geográfica. Los miembros de un grupo local están más relacionados que los miembros de otros grupos que viven en áreas

geográficas distantes. Existen evidencias genéticas y arqueológicas de que los bovinos domésticos descendientes del URO se dispersaron desde el Oriente Medio por Asia y Europa hace aproximadamente 100,000 años, y se produjo la gran división entre *Bos taurus* y *Bos indicus*, permitiendo varios puntos de domesticación simultáneamente (Troy y col., 2001). Este proceso afectó la distribución geográfica de la variación genética de manera importante; primero, las poblaciones fundadoras llevaron con ellas solo una muestra de la variación genética de la población encontrada en la población ancestral. Segundo, como los fundadores se separaron más ampliamente uno de otro, la probabilidad de que los dos individuos se aparearan fue cada vez más variable. Tenían mayor probabilidad si vivían más cerca uno de otro. Este apareamiento asociativo (no aleatorio), restringió la mezcla de individuos que vivían en diferentes regiones geográficas y a través del tiempo se produjo la diferenciación entre grupos. Por tanto, las poblaciones que comparten características físicas similares como resultado de la selección natural, pueden ser muy diferentes desde el punto de vista genético (Bamshad y col., 2004). Por ejemplo, el color de la piel en humanos (característica influenciada por la selección natural) frecuentemente se utiliza para clasificar a las poblaciones en razas, pero estos grupos que tienen características físicas similares (individuos de Subsahara de África y Aborígenes australianos), son genéticamente diferentes (Bamshad y Olson, 2003). Es por lo anterior por lo que desde el punto de vista de conservación de recursos zoogenéticos, el concepto administrativo de raza pasa a segundo término y se enfocará como poblaciones aisladas o diferenciadas genéticamente. La estructuración geográfica de las poblaciones se da en razas distintas pero con cercanía geográfica (Anderung y col., 2005) y hasta en los individuos de una misma raza, como es el caso de la población Holstein que en el estudio hecho por Hanslik y col. (2000) se agrupan los individuos por continente.

### **Origen filogenético de los bovinos domésticos.**

Los bovinos domésticos pertenecen al orden *Artiodáctilo*, suborden *Ruminantia*, familia *Bovidae* y género *Bos*. A la familia *Bovidae* pertenecen también otros animales domésticos como los yaks, bisontes y búfalos, que han jugado un rol importante desde el punto de vista económico, cultural y religioso (Ritz y col., 2000). Actualmente, se reconocen dos especies del género *Bos*: *Bos taurus* o ganado taurino y *Bos indicus* o ganado Cebú, que se caracteriza por tener giba; están nombrados como dos especies diferentes, pero debido a que existe inter-fertilidad son consideradas como dos subespecies, además está reconocido otro grupo intermedio que son las cruces africanas de Cebú con razas taurinas (Nijman y col., 1999).

### **Clasificación zoológica**

Reino animal  
Tipo cordados  
Clase mamíferos  
Orden ungulados (mamíferos con pezuña)  
Suborden artiodáctilos (pezuña hendida)  
Rama rumiantes (poligástricos regurgitadores)  
Familia *bovidae* (con cuernos huecos)  
Subfamilia bovinos  
Genero *Bos*  
Especies *Bos taurus* – *Bos indicus*



Todos los bovinos domésticos son descendientes del Uro (*Bos primigenius*), que habitó prácticamente todo el territorio del viejo mundo, de él se han identificado tres subespecies *Bos primigenius namadicus* (Asia), *B. primigenius opisthonomus* (Norte de África) y *B. primigenius primigenius* (Europa) (Bradley y col., 1996a). Solo el europeo sobrevivió en épocas recientes, el último animal reportado fue sacrificado en Polonia en 1627. Respecto al origen, los *Bos taurus* de tipo europeo descienden del *Bos primigenius primigenius* y los de tipo africano, descienden del *Bos primigenius opisthonomus*; respecto al origen del *Bos indicus* se supone al *Bos primigenius namadicus*. Sin embargo, el origen del Cebú africano es ambiguo, pues de acuerdo a los estudios de Loftus (1999), los resultados de los microsatélites lo ubican como una división del Cebú de la India, pero según el estudio de ADN mitocondrial, se deriva del *Bos taurus*. De esta manera el Cebú africano parece ser un híbrido, con la mayoría de su genoma derivado de introgresión de *Bos indicus*, con herencia materna de *Bos taurus*, que indica un centro de origen *Bos taurus* en ese continente. Esta teoría la apoyan además las pinturas rupestres que representan al ganado africano sin giba y no existe evidencia de esqueletos cebuinos en los primeros sitios de domesticación africanos (Grigson, 1991). El tiempo estimado de separación entre los grupos es muy variable pero indica en todos los casos decenas de miles de años, por lo que fue previo a la domesticación. Esto indica que los centros de origen de la domesticación fueron varios y no ha sido fácil uniformizar criterios, se piensa que se llevó a cabo en un reducido grupo de centros primarios, donde las condiciones fueron favorables. Los dos grupos principales probablemente fueron domesticados en dos lugares diferentes y a partir de dos tipos de Uro diferentes (Bradley y col., 1996a; Loftus y col., 1994). Las evidencias arqueológicas indican que la domesticación de *Bos taurus* sucedió hace 10,000 años aproximadamente en Anatolia en el Oriente Medio (Perkins, 1969). En el caso del *Bos indicus*, todo parece indicar que sucedió en Mehrgart en Pakistán donde existe suficiente evidencia de hacinamiento de ganado de hace 7000 años, además de la morfología de los cráneos encontrados y de las figurillas de barro representando animales con gran giba (Bradley y col., 1998). Los centros de domesticación se caracterizan por retener mucha variabilidad genética, siendo ésta una característica del Oriente Medio con una reducción hacia Europa, África e India (Loftus y col., 1999). La mayoría de los eventos de domesticación ocurrieron en el suroeste y el este de Asia hace aproximadamente 8,000 a 10,000 años y parece que no fue por casualidad. Durante ese tiempo el clima había comenzado a calentarse y ser más estacional, favoreciendo la proliferación de las plantas con grandes raíces y tubérculos y la producción de gran cantidad de semillas por las plantas anuales. Tales especies son fáciles de cosechar, cultivar y almacenar, y así, algunas poblaciones humanas iniciaron su expansión rápidamente y se establecieron grandes centros de población. Al establecerse las comunidades en lugares fijos, fue necesaria la domesticación de los animales. La transición a la domesticación de los animales es una parte muy activa en de la investigación (Bruford y col., 2003).

### **Análisis genético del origen de la domesticación de los bovinos.**

El marcador de elección para este tipo de estudios es el ADN mitocondrial, que es un pequeño plásmido (menor de 20 kb en mamíferos) que se localiza únicamente en los organelos mitocondriales. Es altamente variable dentro de especie, de tal manera que en humanos en una sola sección, la región control, se han identificado más de 500 haplotipos distintos (Handt y col., 1998), y en cabras se identificaron 331 haplotipos de 406 individuos representando 88 razas de 44 países de Europa, Asia África y Cercano Oriente (Luikart y col., 2001).

El ADN mitocondrial evoluciona extremadamente rápido comparado con el ADN nuclear y consecuentemente, es una herramienta poderosa para establecer niveles de diversidad genética y estructura filogenética dentro de especie. El ADN mitocondrial de los mamíferos se hereda casi exclusivamente por la vía materna, es haploide y no sufre recombinación. Estas características indican que cada individuo posee un simple haplotipo que en los análisis filogenéticos son relativamente fáciles de interpretar, aunque por ser heredado sólo por vía materna, no se detecta el flujo genético mediado por los machos. Alternativamente se podrían utilizar secuencias propias del cromosoma Y pero son mucho menos variables por lo que no son de amplia utilización (Bruford y col., 2003).

Los microsatélites o secuencias de repetición simples (SSR, simple sequence repeats) o repeticiones cortas en serie (STR, short tandem repeats) son pequeñas secuencias polimórficas de ADN de 1 a 6 pb repetidas en serie (short tandem repeats), que se encuentran en todos los genomas de procariontes y eucariontes descritos hasta la fecha (Zane y col., 2002) Se pueden amplificar fácilmente por medio de PCR, debido a que generalmente, su tamaño es inferior a 350 pb. Están presentes en zonas codificadoras y no codificadoras y son muy polimórficas. Los análisis de las bases de datos han mostrado que la repetición dinucleotídica más frecuente es AC, y que ocurre dos veces con más frecuencia que AT y tres veces más frecuente que AG (Beckmann y Weber, 1992).

Los microsatélites tienen tres usos primarios en estudios sobre la domesticación. Primero, se utilizan para cuantificar la variación entre poblaciones y razas (Hanotte y col., 2000). Segundo, permiten detectar la mezcla de poblaciones (Giovambattista y col., 2000). Tercero, se pueden utilizar para asignar individuos a grupos similares a nivel de población, raza o especie (Maudet y col., 2002).

Estas herramientas han contribuido de manera importante en la elucidación del proceso de domesticación de los bovinos. Originalmente, se pensaba que *Bos taurus* y *Bos indicus* eran dos formas diferenciadas de un solo evento de domesticación; por medio de los marcadores moleculares se investigó el origen de ese ganado, comparando el ganado taurino de Europa y África con el cebuino de India y África. Sorprendentemente, el Cebú de la India se observó que era muy diferente al taurino de Europa y África y al Cebú africano, con el cual compartía importantes secuencias. El nivel de divergencia en las secuencias del ADN mitocondrial fue consistente con las estimaciones hechas con carbono 14, ubicando el origen de sus ancestros comunes en cientos de miles de años (Bradley y col., 1998). Sin embargo, la domesticación del ganado fue mucho más reciente. Por lo tanto, la explicación más probable es que aunque tienen un ancestro común de hace miles de años, la diferenciación genética de estas subespecies se dio a partir del *Bos primigenius* (Uro) al domesticarse en dos regiones diferentes (Loftus y col., 1994).

Por otra parte, los datos muestran que el Cebú africano tiene solo ADN mitocondrial taurino pero estudios hechos con microsatélites y ADN del cromosoma Y, mostraron que existe mayor similitud con otras poblaciones cebuinas (MacHugh y col., 1997), lo que sugiere que el genoma de los bovinos Cebú africanos en su mayoría se derivó de machos cebuinos originarios de Asia y del Oriente Medio a pesar de que se originaron a partir de algunas hembras taurinas. Esto también ha sido corroborado con un estudio más reciente en el que se utilizó también ADN nuclear de Uro (Troy y col., 2001). Así, los bovinos parece ser que se domesticaron en el Cercano Oriente, por lo que se esperaría que actualmente la mayor diversidad genética se localice en esa región (Bruford y col., 2003).

## **Los bovinos Criollos en América**

La ganadería fue la gran aportación del Viejo Mundo al Nuevo, donde apenas existía. Durante más de tres siglos los vacunos, importados en su mayor parte de la Península Ibérica, proporcionaron carne, leche, cuero y trabajo, al adaptarse perfectamente a las condiciones del suelo y clima americanos. A mediados del siglo XIX en México comenzó a sustituirse el vacuno Criollo por razas británicas y continentales. Los pocos animales americanos domesticados como la llama, el pavo o guajolote y el cuy o conejo de indias tenían, además, ámbitos regionales muy localizados.

Para esclarecer el origen de la ganadería americana, es necesario recurrir a fuentes de información muy antigua, imprecisa y dispersa. Las principales son: las Cédulas Reales de hace más de cuatrocientos años, el Archivo General de Indias de Sevilla y las historias narradas por los conquistadores, especialmente por los frailes que los acompañaron, que fueron testigos de muchos hechos sucedidos durante el descubrimiento, conquista y colonización del continente americano (Primo, 1992).

La gran diversidad biológica y cultural de México, la larga tradición y experiencia de los pueblos en la domesticación, el cultivo y la conservación de plantas, hicieron que México fuera uno de los mayores centros agrícolas del mundo (Hernández-Xolocotzi, 1998). La agricultura mesoamericana, basada en la diversidad, era completamente opuesta a la agricultura y la ganadería traídas por los europeos, que se sustentaban en la simplificación de la diversidad biológica y cultural.

La importación de las primeras 50 cabezas de ganado bovino se produjo en 1521, por Gregorio Villalobos, durante la conquista de la Nueva España (Suárez-Domínguez y López-Tirado, 1996).

Los primeros embarques de vacunos hacia el Nuevo Mundo se realizaron a partir del segundo viaje de Cristóbal Colón (Cádiz, 25 de septiembre de 1493). Por problemas de espacio, en aquellas pequeñas naves, el ganado vacuno era pequeño, becerros y becerras, que en esta travesía fueron acompañados de cerdos y ovejas con destino a la isla de Santo Domingo, llamada por Colón La Española. En el tercer viaje (30 de mayo de 1498), desde Sanlúcar de Barrameda se mandó un mayor número de animales, especialmente caballos, muy necesarios para la conquista, y parejas de bovinos y de asnos a fin de promover la cría. Las exportaciones españolas hacia América en los primeros tiempos de la colonización estaban fundamentalmente compuestas por alimentos, aperos de labranza y manufacturas. Entre los alimentos se lleva trigo, legumbres, vino (a partir de 1519 se exportaban vides para plantarlas en América), aceite, vinagre, azúcar, y desde Canarias se enviaron obreros especializados para su producción). Para fomentar la agricultura y la ganadería se mandaban aperos en general y semillas, plantones y ganados. Las manufacturas comprendían paños, sedas, ropas, vidrios, cuchillería, herramientas, libros, etc. En todo caso, la introducción del ganado vacuno en el mundo novohispano fue muy lenta y bastante difícil debido a diversos factores, principalmente por la dificultad que implicaba la salud y la nutrición de los becerros de corta edad y la casi imposibilidad de manejar y alimentar animales adultos, poco mansos, en aquellos barcos tan rudimentarios. Por estas circunstancias, las autoridades y/o el Gobernador de La Española impidieron la salida de este tipo de ganado de la isla, más aún, permanentemente urgían a la Corona sobre nuevos envíos de bovinos pequeños y caballos para la conquista; sin embargo, en los envíos posteriores se prefirieron los cerdos y las ovejas por su fácil embarque y transporte.

Estas medidas tan estrictas de impedir la salida de ganado vacuno de La Española para otras comarcas antillanas o continentales, agradaron a quienes querían tener en exclusividad el negocio ganadero en las islas del Caribe y entre éstas y tierra firme. Esta medida de prohibición fue tan rígida, y estrictamente cumplida, que en 1509, cuando se decidió poblar de animales domésticos la isla de Jamaica, sólo pudieron salir de La Española caballos y cerdos, pero no vacunos; y Cuba 20 años después de

su descubrimiento, sólo poseía cerdos. En 1511 Diego Colón, hijo del Almirante y Gobernador de La Española fue felicitado por estas medidas que evitaron poblar las tierras continentales de vacunos; al mismo tiempo se le pidió dejara salir caballos para tierra firme, a lo cual accedió por tratarse de animales indispensables para la conquista. Por esta autorización, ya existían en 1514 algunas fincas de cría caballar en Santa María la Antigua (Colombia, junto a Panamá), de donde salieron ejemplares para las conquistas de Pizarro y demás conquistadores del Imperio Incaico.

Los españoles desembarcaron en el Caribe con los primeros bovinos y desde allí se inició su dispersión, con tal éxito que antes de 40 años desde su introducción, desde 1524, ya se informa sobre la existencia de bovinos en todos los países de América del Sur. Ingresaron por Santa Marta, Colombia, en primer término. Una subcorriente entró a Venezuela. Hacia el sur, Lima constituyó el foco principal de dispersión. Desde allí atravesaron Bolivia, Paraguay y Chile hasta alcanzar la República Argentina y Uruguay. Otra corriente llegó desde el Brasil y el propio Río de la Plata se convirtió en un foco importante de dispersión. Desde 1524, América comenzó a poblar su territorio de bovinos y a introducirlos en sus sistemas ecológicos.

Entre todas las razas de ganado que llegaron, entre 1493 y 1512, las de origen ibérico fueron las más predominantes en las cuatro islas antillanas. En el conjunto de reses ibéricas de cuernos largos, retintos y berrendos, hasta antes de 1520, estaba bien representado el ganado marismeño del delta del Guadalquivir. Tanto así, que en Jamaica el 35% de las razas provenían de las grandes marismas de Sevilla y Huelva y cuando menos una de cada cuatro cabezas eran andaluzas. El otro grupo bien representado eran las razas extremeñas (Jordan, 1993).

Es mucho lo que se ha escrito sobre el origen del ganado bovino en América. Hoy en día no se sabe con certeza si proviene de la España Peninsular o de la España Insular (Islas Canarias) (Primo, 1992). Aunque Jordan (1993) señala el año 1520 para la introducción del ganado en Panamá y Cartagena de Indias en Colombia, en México llegó a lo largo de la década de 1520, a Honduras en 1529, a la región inca en 1530, a Florida en 1565, en la década de 1670, a Carolina del Sur y a Luisiana en 1700. Hacia principios del siglo XVIII se encontraba en Nuevo México y en 1769 llegó hasta la Alta California.

Después de los primeros Viajes de Cristóbal Colón, los embarques de ganado vacuno para América se hacían principalmente desde Sevilla, aunque también se realizaban esporádicamente desde Cádiz u otros puertos de Andalucía. Por estos puertos salieron las entonces poblaciones, hoy razas ganaderas andaluzas y extremeñas, que sirvieron como bases únicas para la formación de las razas criollas actuales. Entre las razas fundadoras destacan: la raza Palmera de Canarias que también fue embarcada en la última escala del largo viaje hacia América, la Canaria propiamente dicha o Criolla de Canarias, la Retinta Andaluza; posteriormente, la Asturiana y la Gallega (Rodero y col., 1992). Algunos creen que los primeros animales embarcados para América provenían del centro de la Península Ibérica, y que luego se trajeron mayoritariamente del sur. También hay autores, que sostienen que muchos de los animales que se trajeron provenían de la Feria Ganadera de Zafra (Extremadura), cuyo origen se remonta al año 1453 y que gozaba de mucho prestigio. M. Romero Aguirre en 1957 los describe como: "Animales corpulentos, de buena alzada, con sistema óseo muy desarrollado; cabeza muy voluminosa y astas prominentes. Sobrios en la alimentación. De pelaje variado". Todos los vacunos que se trasladaron a América Latina y al sur de los Estados Unidos, durante los cincuenta años posteriores al descubrimiento, no llegaron a las mil cabezas. La ganadería que llegó a América sería, pues, un aporte canario-andaluz, es decir andaluz, pues los vacunos llegados a las Canarias tenían ese origen. El problema que planteaban durante las grandes travesías los equinos y vacunos adultos era su gran consumo de agua y su competencia por la misma con los viajeros, por lo que ante la necesidad de tener que elegir, los animales iban a parar al mar, lo que restringió la llegada de animales embarcados en Europa.

Algunos historiadores sostienen que la ganadería de la Península Ibérica, especialmente la española, era a fines del siglo XV una ganadería que había recibido masivas cantidades de animales, tanto de África como del Cercano Oriente y que dado el poco tiempo transcurrido todavía no había terminado el proceso de aclimatación; Se desconocen las repercusiones que tuvo la conquista de los españoles por los árabes en el siglo VIII (Rodero y *col.*, 1992). Se ha escrito del ganado bovino durante dicho período, su permanencia en la Península Ibérica fue menos prolongada que la etapa de adaptación que tuvieron en América. Por lo tanto, se puede aceptar que la Península fue el puente que permitió la dispersión de ese ganado por tierras americanas, donde encontraría un hábitat que durante 500 años sería su medio y por consecuencia el que lo modelaría (Carrazzoni, 2002). Existe evidencia que las razas andaluzas tienen en su genoma parte de líneas africanas demostrado a través de ADN mitocondrial (Miretti y *col.*, 2004).

La primera expansión de ganado vacuno por el continente la inició Rodrigo de Bastias, hombre de grandes influencias y uno de los más ricos ganaderos hasta entonces por la Corona Española. Según datos de la época, poseía más de 10,000 cabezas en La Española, ya que cuando se instaló en la isla invirtió gran parte de su capital en ganado en cuya explotación tuvo un gran éxito. Además, por tener grados eclesiásticos, le fue fácil obtener autorización real para llevar al continente (Santa Marta de Colombia) vacunos y otros animales domésticos. Cuando Bastidas tenía preparada la expedición a tierra firme con las embarcaciones listas, las cuales debían zarpar de La Española, solicitó la autorización real para sacar de la isla 200 vacas, cerdos y caballos para la cría, que le fue concedida por medio de la Cédula Real del 16 de mayo de 1524, fue la primer incursión de ganado vacuno en tierras continentales de México. El toro de lidia fue introducido en 1522 por Altamirano, quien embarcó 12 reses de Navarra (Ramírez N. y Berruecos V., 1995).

## ***Origen de los Bovinos Criollos Mexicanos.***

### **El Comercio de Canarias a América**

La historia de la ganadería en México presenta grandes lagunas, salvo algunas excepciones en los siglos XVI y XVII. La situación geoestratégica privilegiada de Canarias constituyó un problema para el sistema monopolista-comercial de los organismos indianos (Consejo de Indias y Casa de la Contratación). Las islas Canarias en su deseo de comerciar con el mercado americano se enfrentaron, durante los siglos XVI al XVII, al monopolio de los comerciantes establecidos en Sevilla, así como a la rígida organización comercial de la Casa de la Contratación (1503-1790), creada por los Reyes Católicos para estimular, encauzar y controlar el tráfico con el Nuevo Mundo. Tenía precedentes en instituciones semejantes creadas anteriormente en otros países, en especial la "Casa da India" de Lisboa. En principio se organizó como una agencia de la corona castellana, para realizar, por cuenta propia, y en régimen de monopolio, el comercio con las tierras recién descubiertas, pero la ampliación insospechada del escenario americano hizo imposible este proyecto, y la Casa de Contratación se convirtió en el órgano destinado a inspeccionar y fiscalizar todo lo relativo al tráfico indiano (Rodero y *col.*, 1992). El forcejeo que se estableció entre los intereses canarios y la actitud nada generosa de la Casa de la Contratación, tenía como parte fundamental el contrabando; los temores de las autoridades se centraban en torno a la posibilidad de que el archipiélago se convirtiera en un gran centro de comercio clandestino y de contrabando atlántico que sirviera de plataforma para conectar directamente con los mercados indianos. Hacia 1564 se crea en La Palma el Juzgado Oficial de la Contratación de Indias de Canarias y en 1566 en Tenerife y Gran Canaria. Su función era la comprobación de que los barcos fueran provistos de registros y el cobro de derechos a barcos extranjeros. En el siglo XVII continúa el

sistema de concesión de licencias para comerciar que fue prorrogado para reanimar la economía canaria y sacarla del precario estado en que se encontraba. En 1612 el Consejo de Indias señalaba el tonelaje concedido para comerciar, en 1649 fue suprimido y reanudado nuevamente en 1650. En 1657 se establece por Real Cédula el Juzgado Superintendente de Canarias. La Real Cédula de 1678 instauró para el archipiélago el llamado "tributo de sangre" o el envío obligatorio de cinco familias a cambio del permiso para poder comerciar con 100 tn. En 1718 se consolida la Intendencia General quitando atribuciones al Juez Superintendente. En 1778 se implanta el Reglamento de Libre Comercio y entran nueve puertos peninsulares en el comercio con Indias con los que hubo que competir. En 1804 se suprime el Juzgado Superintendente de Canarias.

## **Desarrollo de la ganadería en México.**

Llevar a cabo la estimación de la cría de ganado en la Nueva España y en general en la América colonial, para los dos primeros siglos coloniales resulta una tarea difícil. Para el caso de la carne, solo en el siglo XVIII se puede medir el flujo de ganado hacia las grandes ciudades, esto debido a que existen registros de comercialización que tenían como fin captar impuestos (Celaya-Nandez, 2003). Las actas de cabildo, libros de abasto, libro de casa de matanza y el impuesto de extracción de ganado han resultado de gran ayuda para conocer la historia de la ganadería colonial.

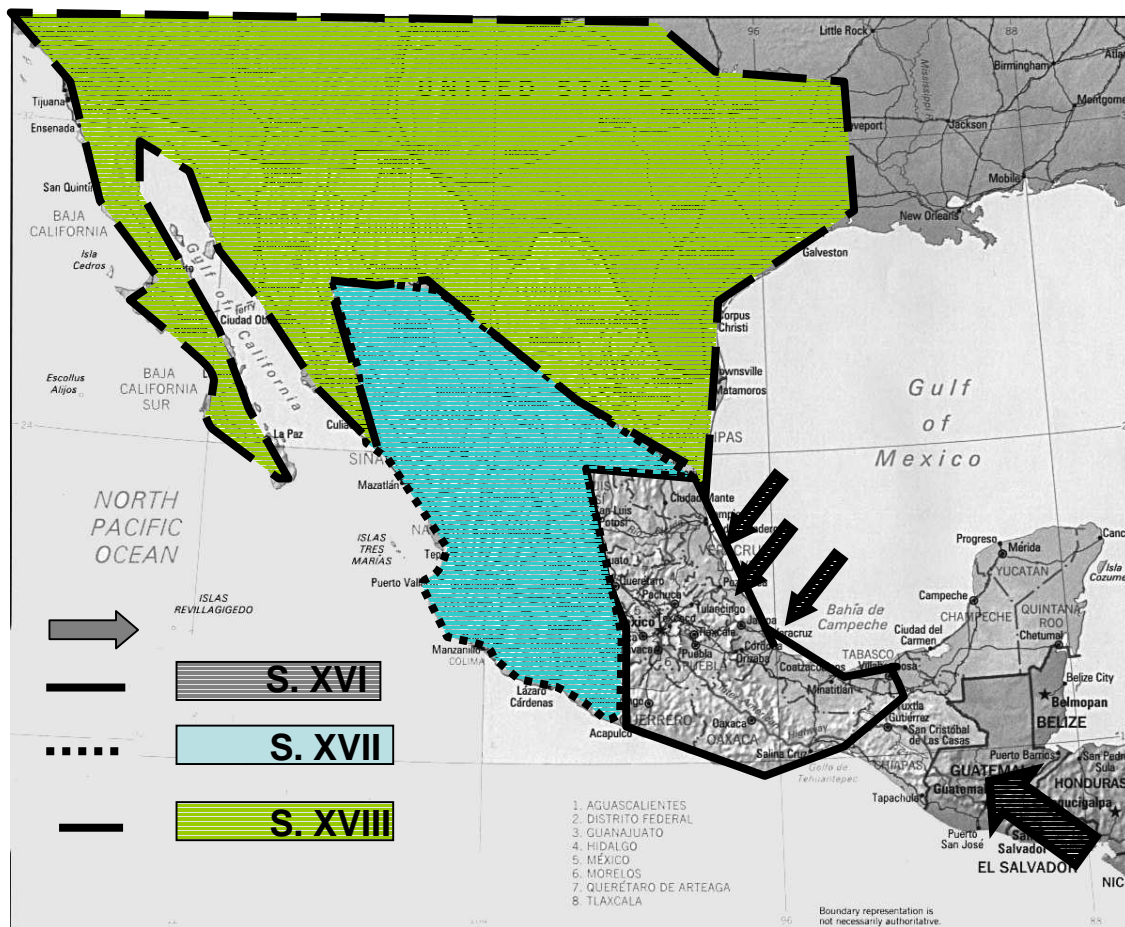
En México se reprodujeron bien todas las especies ganaderas. Sin embargo, el desconocimiento de la ganadería por parte de los indígenas, hizo que se desarrollara en forma tardía y sin competencia. Algunas se orientaron hacia determinados mercados; así, el vacuno y el porcino se destinaron a abastecer los centros urbanos y mineros. Durante los primeros años de colonización, llama la atención que emigraron pocos granjeros, pues no podían emigrar legalmente, aunque algunos lograron viajar como soldados o marinos que no pensaban volver a Europa. El perfil de los emigrantes era gente pobre, de cultura urbana, 27 años, soltero, sin experiencia y que alguien le pagó el traslado (Butzer, 1988). Las minas estaban comúnmente en zonas áridas donde no había forrajes, por lo que tuvieron que contar con una región ganadera que les sirviera de apoyo. La abundancia de ganado vacuno originó una baja del precio de la carne (a mediados del siglo XVI costaba la tercera parte que en España), lo que llegó a alarmar al Cabildo mexicano, que prohibió venderla a menos del valor establecido. La situación fue tan grave que dejó de ser negocio llevar la carne a las ciudades, matándose las reses para aprovechar únicamente su cuero (que se exportaba) y su sebo, con el que se fabricaban velas y posteriormente jabones (<http://www.artehistoria.com/frames.htm?http://www.artehistoria.com/historia/contextos/1549.htm>).

El incremento en la cantidad de ganado vacuno obedeció básicamente a dos aspectos, el primero es que los españoles consumían más carne de ovino o de cerdo y segundo, que los indios tampoco consumían la carne bovina, a tal grado que se consideró como una plaga que destruía las cosechas de maíz y desde 1550 se extendió un decreto en que las estancias deberían ser adjudicadas en lugares donde no perturbaran las cosechas de los indígenas, desde entonces fue muy difícil aplicar las leyes que igualaran los derechos a los de los colonizadores (López Lomelí, 2002). Durante la segunda mitad del siglo XVIII la región de Guadalajara desempeñaba un papel preponderante en los mercados ganaderos de vacuno en el Virreinato de la Nueva España, junto con Nuevo León, Sonora y San Luis Potosí. De esta región se enviaban a Puebla y México grandes cantidades de bovinos, tan solo en el mes de mayor comercio, octubre de 1728, fueron 26,000 cabezas. Se estima que entre Guadalajara y Zacatecas tenían en esa época 5,000,000 de cabezas bovinas, y en España se estima que había 4,500,000 (Serrera, 1977). El origen de tan bastas fortunas se debió a tres colonizadores llegados en el siglo XVI: Juan Fernandez de Hajar, Alonso de Avalos y Alvaro de Bracamontes. Llegaron entre 1523 y 1524 y

después de haber efectuado matrimonios dirigidos, la acertada política matrimonial hacia el siglo XVIII dio excelentes resultados, logrando una gran fuerza económica en los estados de Colima, Nayarit, Zacatecas y Jalisco, y con gran influencia en todo el territorio nacional.

**Cultura ganadera.**

La introducción, el crecimiento del hato ganadero y el desarrollo de una cultura ganadera en México se puede agrupar en tres períodos (Guevara y Lira-Noriega, 2004). El primer periodo es el arribo del ganado al Golfo de México y al altiplano central, alrededor de la ciudad de México. El segundo periodo incluye la ocupación del Bajío, de la costa del Pacífico y del altiplano del norte, proveniente de la costa del Golfo de México y del altiplano central. El tercer y último periodo es la llegada del ganado a California, Nuevo México, Florida y Luisiana según la descripción de Jordan (1993). Ver Figura 1.



**Figura 1. Etapas de introducción de la población bovina en México durante los siglos XVI a XVIII**

**Primer Periodo.**

La entrada de ganado a México fue por el Golfo de México, por el territorio del actual estado de Veracruz. En 1620, un siglo después de la conquista de Tenochtitlan, la mayor parte del ganado mexicano pastaba en las tierras bajas del golfo, en la costa o



muy cerca de ella, aunque alcanzó también Ciudad Valles y Tamazunchale tierra adentro, al pie de la Sierra madre Oriental en San Luis Potosí. En la planicie costera del Golfo de México, el ganadero disponía de grandes extensiones de tierras planas, en buena parte inundadas durante una estación o todo el año, como ocurría en el delta del río Pánuco y del río Papaloapan, o en el delta y cuenca del río Grijalva y Usumacinta (Jordan, 1993).

En las tierras del altiplano central, en la cercanía de la ahora Ciudad de México, se introdujo el ganado en 1535, en tres lugares (Figura 1): los alrededores de Toluca en el Estado de México, en los llanos de Apan en el Estado de Hidalgo y en Huamantla en el Estado de Tlaxcala. En ninguno de los tres lugares prosperó la ganadería, probablemente debido a que en esta región no hubo un descenso de la población indígena como ocurrió en las tierras bajas del golfo. La actividad agrícola continuó de manera intensiva y extensiva y fue protegida por la ley, haciendo que la actividad ganadera fuera marginal (Jordan, 1993).

### **Segundo Periodo**

Desde el altiplano central, Toluca, Apan y Huamantla donde el ganado se mantenía de forma precaria, el hato se desplazó hacia el noroeste de México, a la región conocida como el Bajío (Figura 1). La flora del Bajío ofreció al ganado una mezcla de pastos perennes, con árboles de encino y mezquite, arbustos de acacia y varias especies de cactáceas (Jordan, 1993). La región fue excepcionalmente propicia para la ganadería del altiplano, lo cual facilitó su avance hasta la costa del pacífico por un lado y el norte del altiplano por el otro (Figura 1). El Bajío tenía una población indígena poco densa, lo cual explica la gran influencia de la cultura ibérica, que hizo de la región un verdadero centro de la ocupación española de la Nueva España, basado en una vigorosa industria ganadera. La rápida expansión de la ganadería en el Bajío fue ayudada por el descubrimiento de minas de plata en Guanajuato en 1554. Desde entonces ganadería y minería forman una mancuerna, la una provee de carne, combustible para velas y cueros y la otra de la inversión para desarrollar la ganadería de escala. Este binomio de producción minería y ganadería en el altiplano fue tan importante en el modo de producción como lo fue la caña de azúcar y la ganadería en el trópico húmedo. La iglesia fue otro catalizador del éxito de la ganadería en esta región. El ganado se utilizó para impulsar la evangelización de los pueblos chichimecas, se formó entonces el trinomio minería-ganadería-evangelización (Jordan, 1993).

Cuando los hatos sobre-pastorearon el Bajío, la ganadería se desplazó hacia el norte del altiplano, al desierto chihuahuense, la región natural de mayor extensión del territorio mexicano (Figura 1). Este desierto se extiende desde el estado de San Luis Potosí hasta el sur de los Estados Unidos, está separado del Océano Pacífico por la Sierra Madre Occidental y del Golfo de México por la Sierra Madre Oriental. Es una zona árida y semi árida que posee muy pocos recursos forrajeros. El avance hacia el desierto chihuahuense fue estimulado por el descubrimiento de minas de plata en Zacatecas, Durango y Chihuahua. Los rancheros para garantizar agua y pastos trasladaron el ganado hasta alcanzar la zona de Parral en el sur del estado de Chihuahua. El ganado disponía de pocas hierbas para pastoreo y ramoneaba árboles de mezquite. Se crearon enormes ranchos, algunos con más de 100,000 cabezas, a pesar de que se requerían más de 10 hectáreas por cabeza y de que había que enfrentar la hostilidad de tribus indígenas nómadas.

La costa del Pacífico tiene una estrecha planicie costera, la sierra es alta y continua y llega hasta la costa, lo cual explica su aislamiento del resto del país, pues a lo largo de la Sierra Madre Occidental son pocos los pasos que hay hacia el altiplano central y norte. Los ganaderos encontraron pocos sitios adecuados para el ganado vacuno, solo algunas marismas, ojos de agua y escurrimientos de la Sierra. Es una zona donde no hay pastos abundantes y el pastoreo se complementa con ramoneo. La costa del pacífico exportó ganado hacia tierra adentro, como se documentó en la década de 1760 entre Tepic y Guadalajara (Jordan, 1993). La movilización del ganado desde la



costa a tierra adentro, consistía en el arreo de las reses en temporada de sequía, esto se hacía para evitar pérdidas por peso o mortandad una vez que la sequía se instalara en el lugar de origen del ganado. A fines del siglo XVI, la Nueva Galicia (actualmente los estados de Jalisco y Guanajuato) fue el principal exportador de vacunos para el abasto de la Nueva España, desde la ciudad de Tepic (Nayarit) se arreaba ganado a la Ciudad de México y Puebla, lo que indica que la mayor concentración de ganado bovino estaba en la costa. La producción oscilaba entre 300,000 y 350,000 reses al año, las exportaciones de la provincia aumentaron en la segunda mitad del siglo XVIII y en los primeros años del siglo XIX (Guevara y Lira-Noriega, 2004).

### **Tercer periodo**

La ganadería de Texas tuvo influencia del altiplano central y del Golfo de México (Jordan, 1993). La primera introducción notable se llevó a cabo en 1721 en misiones franciscanas, las cuales tuvieron que limitar el hato ganadero debido a su efecto negativo en las cosechas. En 1745 cinco misiones cercanas a San Antonio registraron alrededor de 5,100 cabezas de ganado vacuno,

A finales del siglo XVIII se colonizó la Alta California, se creó una nueva frontera ganadera, fuertemente dependiente de los esfuerzos de las misiones franciscanas por evangelizar a los indígenas. La primera misión de franciscanos se fundó en San Diego en 1769, y cuatro años después en 1773 ya había cinco de ellas, y así continuó su avance en el territorio hasta mediados del siglo XIX, cuando por su decaimiento, fueron sustituidas por la industria privada, que continuó con la ganadería exitosamente (Jordan, 1993).

El ingreso del ganado no fue homogéneo en México. En la región de los altos de Chiapas la migración masiva comenzó a mediados del siglo XIX, con la apertura a nuevas tierras de cultivo abiertas por el presidente Porfirio Díaz, principalmente para el cultivo de café, por lo que la migración de ganado fue más intensa durante esa época (Bobrow-Strain, 2005). La ganadería en la Huasteca Potosina fue un instrumento para expulsar a los indios y privatizar las tierras indígenas. El colapso demográfico del siglo XVI facilitó la expansión de la propiedad ganadera en la zona (Hernández García, 2001).

Desde fines del siglo XVI y hasta las primeras dos décadas del siglo veinte, el ganado Criollo montaraz se movía libremente por la selva (Jordan, 1993). A mediados del siglo XVIII, en tiempos en que el ganado vacuno llevaba entre 150 y 200 años en el territorio mexicano (unas 35 a 50 generaciones, aproximadamente), ya se había notado que el ganado criado tenía pelajes muy variados, mientras que los cimarrones presentaban una cierta uniformidad, pues generalmente eran hoscos y colorados. Se puede definir el pelaje hosco como una capa castaña que presenta en la cabeza, cuello, miembros, panza y cola, color más oscuro, y cuyo hocico es siempre negro. La variedad de pelajes de los animales criados en cautividad siempre era muy grande: negros, blancos, bayos (amarillento), colorados, moros (negro entremezclado con blanco), barrocos, atigrados, overos (mezcla de pelos negros, blancos y castaños), yaguanés (de cualquier color con el lomo y vientre de color blanco) y otros más (Carrazzoni, 2002).

### ***Introducción de nuevas razas.***

A México llegó ganado bovino de distintas procedencias y respecto a los grupos raciales, se definían de forma diferente a los de nuestros días, pues el concepto de color de la capa como definidor racial y la conformación morfológica no existieron en Europa hasta la segunda mitad del siglo XVIII y en Andalucía, hasta un siglo después. Además el flujo de razas españolas y portuguesas, siguió durante los siglos XVII y XVIII (Rodero y col., 1992). Sin embargo, es probable que las razas europeas como

hoy las conocemos hayan tenido una mayor mezcla con otras, que las propias criollas de México, que en algunos casos han permanecido aisladas durante décadas, aunque en pequeño número. Al terminar el periodo colonial, existían entre la ciudad de Acayucan y la ciudad de Santiago Tuxtla, en Veracruz, siete hacendados cuyas propiedades alcanzaron la extensión de 270,350 ha. Los hatos de cada uno de ellos iban desde mil cabezas en un solo sitio, hasta 30 mil en 64 sitios. Acayucan y Santiago Tuxtla constituyeron los centros económicos más importantes de la región de Los Tuxtlas en el sur de México, desde la colonia hasta finales del siglo XIX (Guevara y Lira-Noriega, 2004).

A finales del siglo XIX se inició la importación de pie de cría para el mejoramiento de las razas. Durante el porfiriato (1876-1911) se importaron 160,000 ejemplares bovinos. La introducción del ganado Cebú a México tuvo lugar en 1884 con ejemplares provenientes de los Estados Unidos. Desde principios del siglo XX la ganadería del trópico-húmedo mexicano se transformó con la introducción de razas cebuínas mejoradas, obtenidas principalmente en Brasil y de nuevas tecnologías en materia de pastos y forrajes tropicales, desarrolladas en Australia y África. En el Golfo de México, el primer registro de ganado Cebú (*Bos indicus*) fue en Los Tuxtlas de Acayucan en 1923 de Nelore procedente de Brasil. A principios de los 50 en las tierras bajas de Veracruz y Tabasco había numerosos hatos de este ganado: Guzarat, Gyr, Nelore e Indobrasil, que en tan sólo cuatro décadas sustituyó y prácticamente erradicó al ganado introducido por los españoles (*Bos taurus*) y que por cerca de cuatro siglos fue criado y naturalizado en las zonas del trópico cálido-húmedo veracruzano (Guevara y Lira-Noriega, 2004).

En Chihuahua el cambio del tipo de ganado ocurrió en 1883. En esta fecha Félix Francisco Maceyra, ganadero de Chihuahua y en ese momento gobernador del estado, introdujo el ganado Cebú (*Bos indicus*), traído de Nueva Orleans. Sin embargo debido a lo apartado de los estados norteños, el registro de la introducción de Cebú a México, es de toros de Brasil llevados en 1884 al trópico húmedo. En el Bolsón de Mapimí, en pleno desierto chihuahuense después de la introducción del ganado se detecta la existencia de ganado bovino montaraz en la zona sureste de la región. El ganado montaraz, era también conocido como bronco, feral, o mesteño (mustang en inglés), pues se comportaba como silvestre para poder sobrevivir en la vegetación del matorral desértico, donde hay en general una baja cobertura herbácea y leñosa (Guevara y Lira-Noriega, 2004). Ahí el ganado deambulaba libremente sin que hubiera un control natural de las poblaciones, lo que propició un aumento explosivo del número de cabezas. La cantidad de ganado era tan grande que podía considerarse una plaga en el norte del país. Fue tanto el crecimiento que algunos grupos indígenas tomaron al ganado como sustituto de venados, pecaríes, berrendos y búfalos, que cazaban normalmente. Estos movimientos de animales asilvestrados casi desaparecieron con la llegada a México, aproximadamente en 1889, del alambre de púas y con el fin de las guerras indias entre apaches y comanches, entre 1880 y 1886. Entonces los vaqueros podían controlar y vigilar su ganado sin riesgo de ser atacados. Posteriormente, el déficit pluviométrico provocó la disminución del pasto y el ganado tuvo que migrar y vivir otra vez como silvestre. Esto hizo que en la década de 1970, se reiniciaran las mesteñadas. En Chihuahua existen actualmente dos tipos de ganado bovino: uno se encuentra en ranchos o ejidos, son unidades de producción cercadas por alambre de púas, es una ganadería extensiva con ganado manejado. El segundo tipo es el ganado bronco, silvestre, que no tiene cercos.

De 1930 a 1945, hubo otras importaciones hasta que en 1945 la fiebre aftosa restringió las importaciones desde países que tuvieran esta enfermedad (Ramírez N. y Berruecos V., 1995).

El inventario ganadero cayó en forma estrepitosa durante el periodo revolucionario y posterior a esto, la actividad mejoró lentamente, hasta que en 1926 se detecta un brote de fiebre aftosa y hubo un embargo ganadero por parte de los Estados Unidos. Se sacrificaron 1,200 animales y se declaró al país libre de la enfermedad. Se firmó un

acuerdo con los Estados Unidos en 1928 para evitar las importaciones de ganado de países con aftosa. En 1946 se importaron 327 cabezas de ganado Cebú, las cuales fueron puestas en cuarentena sin mostrar signos de la enfermedad, sin embargo, en la zona de Boca del Río, Veracruz, se reportaron los primeros 300 casos por lo que se declaró oficialmente a México como país con aftosa. En 1947 estaba en 16 estados de la República y en el Distrito Federal; se trató de controlar sacrificando a los animales enfermos, con ayuda de una vacuna y fue posible detener la epizootia en 1954. El costo de la campaña fue altísimo, además de la matanza de más de 1,000,000 de cabezas y con la consecuente pérdida de líneas genéticas (Ramírez N. y Berruecos V., 1995).

En 1936 se escribió la "ley de Asociaciones Ganaderas" y con la intensificación del uso de los potreros, el inicio de las praderas artificiales cercadas con alambre de púas, se incrementó el cruzamiento de los bovinos Criollos cuernos largos, con razas cebuinas, disminuyendo el inventario de la población de bovinos Criollos (Aguilar Robledo, 1991). Resumiendo, el ganado arribó inicialmente a las tierras bajas del Golfo de México y al altiplano central en los alrededores de la Ciudad de México. Más tarde llegó al Bajío, al altiplano del norte y a la costa del Pacífico. La población de bovinos Criollos Mexicanos es la única cuando el ganado vacuno es introducido a México en el siglo XVI y se ve amenazada cuando las razas originales son substituidas por las razas de ganado Cebú traídas a fines del siglo XIX. Aún así, la información tiene inconsistencias acerca de la fecha de introducción del ganado, del número inicial de animales, del tipo de razas y de la descripción de los sitios donde se inició la cría de ganado. Las reses son grandes herbívoros, que al introducirse a un ecosistema dado, competirían con sus homólogos silvestres. Sin embargo, esto no pasó, en la mayor parte de las regiones naturales de la Nueva España, donde se desarrolló la ganadería, las vacas no tuvieron que competir o desplazar a otras especies de grandes herbívoros, ni por su talla, ni por el tamaño de sus poblaciones.

Desde ese entonces y hasta 1950, la ganadería bovina ha registrado varios descensos trascendentales en su productividad. Se citan la depresión ganadera de finales del siglo XVI, las sequías de finales del siglo XVIII, la Guerra de Independencia, el movimiento armado de la Revolución Mexicana y, recientemente, la fiebre aftosa y el reparto agrario.

### **Bovinos Criollos Mexicanos.**

Se localizan principalmente en los estados de Baja California Sur, Chihuahua, Durango, Nayarit, Sonora y Zacatecas. Las vacas criollas generalmente pesan menos de 300 kg y los toros 400 kg. Los pesos al nacimiento difícilmente llegan a los 18 kg. Estos animales presentan una gran variedad de colores, que van desde negro, rojo, pinto de negro o de rojo, rubio y otras combinaciones (SAGARPA, 2002a). Se les denominaba por la característica más sobresaliente "CUERNOS LARGOS" (Beteta Ortiz, 1999).

#### **Criollo de Baja California. (*Chinampo*).**

La siguiente caracterización corresponde a las características corporales de bovinos machos para rodeo de Baja California Sur, grupo racial que se asemeja más en comportamiento y fisiología a un herbívoro silvestre. Se estima que la población de ganado Chinampo puro en Baja California es de 78 mil animales (SAGARPA, 2002a).

#### **Ganado Criollo de Chihuahua.**

Durante los primeros años de la exploración y colonización española de lo que hoy es el Estado de Chihuahua, el ganado era temporalmente introducido y utilizado, casi en su totalidad, para la alimentación de soldados y colonos. Posteriormente, ya a finales del siglo XVI, se formaliza la crianza de ganado en la región del sur del Estado, correspondiendo al capitán Cristóbal de Ontiveros el mérito de ser el fundador de la

ganadería chihuahuense. Como dato preciso, en 1590 funda con sus hijos la estancia ganadera de "Roncesvalles" en las cercanías de Parral, dándose así la base de la actual ganadería del Estado de Chihuahua (González Domínguez, 1989)

Se inicia el siglo XIX y con la guerra de independencia que cambiaría el destino de los habitantes de la Nueva España, gran parte de la economía del latifundio ganadero descansaba en la exportación de novillos hacia Estados Unidos y en el mercado de la ciudad de México. En esos años ya existían las engordas, que proveían al mercado nacional de importantes cantidades de carne, alcanzando un consumo promedio de 17.4 kilos al año por habitante. (González Domínguez, 1989).

Abraham González, ganadero prócer chihuahuense, en 1904 trae un pie de cría consistente en 100 vaquillas y 36 toretes procedentes de Kansas, E.U.A, como es bien sabido el encaste de este ganado Hereford con el ganado Criollo español existente no se hizo esperar, originándose así el famoso ganado "Cara Blanca de Chihuahua".

La absorción del ganado de origen español fue gradual pero consistente, contribuyendo a ello la introducción de otras razas como la Shorthorn o Durham traída por los inmigrantes mormones y menonitas, así como la raza Aberdeen Angus traída a Chihuahua por William Benton, inglés radicado en Chihuahua. Estas razas y otras más, traerían tiempo después valiosas aportaciones para el desarrollo de la ganadería (González Domínguez, 1989).

Con el siglo XX llegó la Revolución Mexicana, movimiento armado que trajo dramáticos cambios a la vida de Chihuahua, que obviamente afectaron a la ganadería. El progreso de la ganadería se estancó, las tierras cambiaron inesperadamente de propietario y el número de ganado fue sistemáticamente mermado hasta casi quedar los ranchos desolados. El ganado llegó a escasear y tuvo que traerse de Sonora y de Estados Unidos para surtir el abasto local. En estas condiciones solo prevaleció el ganado Criollo o "corriente" como se le denomina localmente. Este tipo de animales se caracteriza por su gran resistencia al estrés calórico y su inherente longevidad en este ambiente (Russell y col., 2000). Muchos de estos animales se exportan para usarse en rodeos de los Estados Unidos. La demanda anual es de 40,000 animales aproximadamente. Actualmente no existe dificultad para comercializar los novillos que se producen a precios competitivos. Por ejemplo, novillos Criollos para rodeo con edades entre 8 y 20 meses tienen un precio de 350 a 450 dólares en los Estados Unidos de América, lo que aunado a los bajos costos de producción la hacen una de las actividades pecuarias más rentables.

A principios de 1995, el Gobierno del estado de Chihuahua inició un proyecto para distribuir sementales Criollos entre productores de bajos recursos de la región de la Sierra Tarahumara. El objetivo fue fomentar la producción de novillos para rodeo que se exportan a los EUA, en este proyecto se distribuyeron alrededor de 100 animales.

En años recientes se creó la Asociación de Criadores de Ganado Criollo Mexicano, que en 1995 obtuvo el reconocimiento de la Confederación Nacional Ganadera (SAGARPA, 2002a).

### **Criollo de Chiapas**

A finales del siglo pasado y principios de este, la actividad principal en la región costera de Chiapas era la apertura de bosques y selvas con fines forestales selectivos y para la introducción de cultivos y ganado. Tradicionalmente, la actividad mercantil más importante en la región ha sido la ganadería; la cual se ha desarrollado, en mayor medida, en la parte norte de la planicie, obedeciendo a factores que benefician dicha actividad, como la predisposición natural de la tierra hacia los pastizales. La actividad ganadera se ha orientado a la producción de carne y leche de alto rendimiento (Lucero y col., 2004). Las principales razas explotadas son: la Nelore, Cebú comercial e Indobrasil, existiendo en menor medida Suizo y Criollo (Jiménez González, 1999).

Por otra parte, son los pequeños propietarios los que se dedican en mayor medida a la actividad descrita y en menor proporción son ejidatarios. La producción está basada

en la cría extensiva existiendo un índice de agostadero promedio cercano a 1.3 cabezas por hectárea. Una de las razones a las que obedece este modo extensivo de explotación es el ahorro significativo de mano de obra, que por otra parte, cuando es ocupada se caracteriza por la baja remuneración económica a los jornaleros.

#### **Criollo de Nayarit. De la Sierra Madre Occidental (Coreño).**

La denominación de este ganado se debe a la gente que lo posee, el grupo indígena Cora de la Sierra de Nayarit. En la actualidad se estima que todavía hay unas 9,000 cabezas. Este recurso Criollo ha sido estudiado y evaluado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en su Centro Experimental "El Verdineño" por aproximadamente 20 años, en lo referente a capacidad productiva para estimar los efectos genéticos aditivos y no aditivos, individuales y maternos del Criollo y sus cruza básicamente con razas cebuínas, para características de importancia económica.

#### **Criollo Poblano. Mixteco.**

En México existe una región llamada " Mixteca" que comprende parte de los estados de Oaxaca, Puebla y Guerrero; fisiográficamente se caracteriza por ser zona montañosa y semidesértica, en ella se cría un ecotipo de bovino Criollo adaptado a las condiciones ecológicas de esta región, se denomina "bovino Criollo Mixteco". Este se cría bajo sistemas de producción primitivos y es cuidado por gente marginada y pobre, por lo que adquiere gran importancia económica y social para esta región considerada de alta marginación. Este bovino Criollo por sus características adaptativas de resistencia física, agilidad, forma y tamaño de los cuernos, se ha convertido en un biotipo de gran interés para el deporte del rodeo americano; lo que deriva en una movilización comercial desmedida hacia los Estados Unidos de América y Canadá, con la consecuente disminución progresiva del número de sus efectivos aunados al saqueo indiscriminado. La falta de programas de conservación, la absorción o encaste con otras razas y el desplazamiento por otras razas "mejoradas", hacen, sin duda alguna, que este importante recurso genético animal, se encuentre en riesgo de extinción. Por ese motivo urge establecer programas de preservación y rescate basados en estudios que garanticen la continuidad de esta población (Serrano y col., 2004).

#### **Bovinos Criollos Suramericanos.**

##### **Criollo Argentino.**

Los primeros bovinos ingresados a lo que hoy es el territorio argentino, provienen de los introducidos por los colonizadores españoles durante los primeros años de ocupación. En 1570 fueron llevados a Santa Fe y en 1580 a Buenos Aires. En la zona pampeana se concentró el 90 % de la población bovina criolla del país. Desde allí se trasladaron animales hacia el sur como consecuencia del intercambio indígena (Martínez y col., 2000).

La raza bovina criolla se formó en condiciones de cría libre, en diferentes ambientes y bajo selección natural, estos tres factores fueron los que le permitieron desarrollar una variabilidad genética única, que se refleja a simple vista en la diversidad de sus pelajes. El número de animales creció rápidamente, principalmente en la zona pampeana, donde en 1850 existían unos 20,000,000 de cabezas (Martínez y col., 2000). El proceso de mestizaje con razas inglesas fue muy importante en la pampa húmeda a tal punto que alrededor de 1920 se produjo la extinción del bovino Criollo pampeano en estado de pureza racial. En esa fecha, se formó una nueva población de bovinos Criollos puros en la provincia de Córdoba, Argentina a partir de animales procedentes del Perú por la ausencia de los mismos en la zona pampeana (Martínez y col., 2000).

Poco a poco se fue desvalorizando a la raza criolla con relación a las razas introducidas y solo se conservó en estado de pureza racial en ambientes donde las razas introducidas no eran productivas (Martínez y col., 2000).

Actualmente su censo es de 50,000 cabezas inscritas en su Libro Genealógico de la Asociación de Criadores de Argentina (Beteta Ortiz, 1999).

### **Criollo Patagónico.**

Son bovinos descendientes de los animales introducidos de 1555 a 1587.(Martínez y col., 2003), hallados en un sector del Parque Nacional Los Glaciares, ubicado en el Sudoeste de la provincia de Santa Cruz. No existían hasta 1989 indicios de la existencia de bovinos en ninguna de las provincias patagónicas. Esta población posee dos características únicas que lo diferencian del resto de los bovinos Criollos existentes en la Argentina. Por un lado son los únicos descendientes directos del ya extinto Criollo Pampeano y por otra se han adaptado a una región con clima frío y extremadamente riguroso. La población total es de aproximadamente 200 animales (Martínez y col., 2003). Si bien el bovino Criollo Patagónico se mantuvo aislado por más de veinte generaciones, manifiesta una importante variabilidad genética y baja consanguinidad (Fis multilocus= 0,0135) (Martínez y col., 2005b).

### **Criollo Uruguayo.**

En la zona sureste del Uruguay, fronteriza con Brasil (Departamento de Rocha), existe una reserva de alrededor de 600 animales que habitan en una zona húmeda, de sierras y montes, no alterada, limitada por barreras geográficas naturales, cuyo aspecto morfológico se asemeja al de ciertas poblaciones de bovinos Criollos argentinos, venezolanos, colombianos y ciertas razas ibéricas (Fernández, 2000). Esta población ha despertado un particular interés para estudiar su estructura genética, ya que se ha mantenido aislada alrededor de 50 años (Postiglioni y col., 1998). En Uruguay, la introducción de vacunos fue realizada entre los años 1611 y 1620. A fines del siglo XIX y principios del XX, se introdujeron diferentes razas comerciales (Holstein, Hereford, Aberdeen Angus, Jersey, Normando y Charolais) fueron introducidas estableciéndose un proceso de introgresión genética (cruzamiento absorbente) frente al primitivo Criollo (Armstrong y col., 2006).

### **Criollo Colombiano Casanare.**

Aunque actualmente está en riesgo de extinción, la raza bovina Criolla Casanare fue la base productiva de la ganadería colombiana desde los albores del siglo XVI hasta mediados del siglo XX. Es un ganado propio de los llanos de Arauca, Casanare, Vichada y parte del Meta. Esta raza criolla es obra de la selección natural para los ambientes desfavorables con muy poca intervención del hombre, este ganado solo ha tenido el manejo de un animal salvaje, pues los hatos sólo eran visitados para sacar o cosechar los machos y las vacas viejas para el sacrificio o para la ceba. En la década de 1950, se estimaba alrededor de 1,000,000 los bovinos Criollos en Casanare pero, por el proceso de cruce absorbente con la raza Cebú Brahman, en la actualidad sólo queda un escaso número de animales con características de puro.

Esta raza puede ser la descendiente más directa del ganado español llevado y es el de mas parecido fenotípicamente a los de Argentina, Paraguay y Uruguay (Beteta Ortiz, 1999). Después de 450 años de adaptación en el trópico continúa reproduciéndose en forma extensiva en praderas de poca calidad con condiciones de sequía extrema y sin ninguna práctica sanitaria ni de manejo. Su capa más común es la "amarilla", variando desde el bayo claro hasta el amarillo claro (Beteta Ortiz, 1997). Con cuernos grandes, línea dorsal recta y angosta con extremidades delgadas pero fuertes, es la única raza uniformada por color. Permanece aislada en regiones retiradas.

## Razas Españolas.

Las razas Ibéricas fueron las que dieron origen a la ganadería bovina de América, y particularmente las españolas son la base de la ganadería criolla de México. Sin embargo, al paso de los años la evolución de las poblaciones españolas ha tenido probablemente más influencia que las mismas poblaciones americanas, pues el intercambio comercial ha sido mayor. Describimos algunas de las razas españolas autóctonas, algunas actualmente en peligro de extinción, pero por su parecido fenotípico podrían tener alguna semejanza genética con los Criollos americanos. Dentro de ellas, se encuentran dos poblaciones criollas canarias que en el contexto histórico, son probablemente más semejantes a las de América.

### Berrenda en Negro.

Actualmente está en peligro de extinción. El censo actual no supera los 400 animales y se encuentran además diseminados en diferentes áreas geográficas que limitan el intercambio de material genético entre las diferentes poblaciones (Zamorano y col., 1998). La capa es berrenda en negro con las particularidades de capirola, listón y botinera de las cuatro. En consecuencia el negro afecta a la cabeza, cuello, partes laterales del tronco con simetría. Otra particularidad a destacar es el carácter bocinegro o morro negro ([http://www.berrendodeextremadura.com/raza/negro\\_standar.html](http://www.berrendodeextremadura.com/raza/negro_standar.html)).

### Berrenda en Colorado.

Esta raza está localizada en Andalucía (Sevilla, Cádiz y Jaén, principalmente). La designación de esta raza es consecuente a la coloración de su capa, compuesta de manchas blancas y manchas rojas. También se la conoce el sinónimo de raza Berrenda en Colorado Andaluza por asociación del carácter externo más sobresaliente, al área geográfica originaria. No ha sido precisada la procedencia de la raza Berrenda en Colorado, pero basándose en el parecido de la arquitectura craneana y del pigmentado de las mucosas con la raza Retinta, es tenida como derivada del mismo tronco étnico que ésta, del que toma dirección independiente merced al gen mutante responsable de la capa manchada. Se utiliza para manejar toros de Lidia, carne y tracción.

La historia de la raza puede estimarse paralela a la de los demás bovinos autóctonos de Andalucía, pero marcada por la especial manifestación de su color, con independencia de la mayor dotación dinamógena respecto a la Retinta, en cuyo seno se encuentra inmersa. A la singularidad cromática, cabe atribuir la preferencia de algunos criadores por producir y sostener un ganado distinto al dominante en el país, extremo que la raza Berrenda en Colorado cumplía a la perfección, y que modernamente parece factor decisivo para su conservación, por la aplicación de sus machos para paradas de cabestros.

El seguimiento actualizado de sus explotaciones deduce un censo aproximado de 2.700 vacas, del cual sólo un 25 por 100 se mantiene en unidades étnicas uniformes.

La capa es berrenda en colorado con las siguientes particularidades: capirola es decir las manchas rojas ocupan la cabeza luego se extiende al tronco donde se localizan de formas alunaradas, fusionadas en las partes laterales del cuerpo y de forma simétrica (listona) o dispersas. Las zonas pigmentadas pueden tener distintas expresiones dando lugar a las capas salineras (con invasión de pelos blancos) o afectando a las extremidades (botinero), afectando a la zona periocular (ojo de perdiz) así como alrededor del morro (bociclara). Cuernos grandes de gancho abierto para los machos, con el tercio distal elevado y cepa gruesa ([http://www.berrendodeextremadura.com/raza/colorado\\_standar.html](http://www.berrendodeextremadura.com/raza/colorado_standar.html).)

### **Marismeña.**

Es una raza asilvestrada que habita en el Parque Nacional de Doñana y es la única entidad racial que se explota en régimen de asilvestramiento. Estos animales son capaces de recorrer enormes distancias diariamente en busca del pasto y agua necesarios para su manutención. Esta peculiaridad, por un lado la hace un exponente de la producción natural y ecológica de carne de bovino, y por otro le confiere un lugar en el extraordinario ecosistema del Parque Nacional de Doñana y su periferia, donde ha demostrado desde hace muchos siglos una completa sostenibilidad (Martínez y col., 2005a). Cornilargas y huesudas, representan un tipo primitivo que debe ser conservado. Por otro lado, las vacas que mueren en la marisma son encontradas fácilmente por los buitres que acuden desde los montes de Cádiz y constituyen una parte importante de su dieta.

De acuerdo con Sánchez Belda (2002), puede tratarse de una raza descendiente directa de *Bos taurus macroceros* o su descendiente directo *Bos taurus tartesus*, con los que guardaría una gran relación filogenética debido al sistema extensivo en que se mantiene.

Por otra parte, la localización de esta raza, cercana a los puertos de Palos y Sevilla, los cuales mantuvieron el monopolio para la exportación a América tras el descubrimiento de América (Rodero y col., 1992), se presupone que esta raza influyó en la formación de los bovinos Criollos latinoamericanos. El censo reconocido es de escasamente 1000 vacas de vientre.

### **Pajuna.**

Difícil resulta cuantificar el censo de la raza, su dispersión, el cruzamiento con otras razas afines contribuye a ello. Puede estimarse entre 600 a 700 hembras y 11 machos (solamente se crían en pureza el 10%). Hay 15 lotes concentrados en la zona montañosa antes señalada, salvo pequeñas excepciones como es el litoral de Almería, Granada y Málaga, en donde las condiciones ambientales le son más favorables. La zona de montaña es considerada como de producción o primaria y la costera de explotación o secundaria (ganado domado), que ordinariamente su descendencia pierde por cruzamiento la adscripción racial. Tradicionalmente ha sido considerada de aptitud mixta carne-trabajo, encontrándose hasta la década de los 50 repartida por todas las sierras andaluzas. Es capaz de adaptarse a medios marginados, aprovechando recursos que no pueden ser utilizados por otras razas más carniceras. De esta raza, asociada a los pastizales de las altas montañas béticas, se cuenta con una ganadería de 40 ejemplares en Escúllar, de gran pureza racial, aunque conviven en la misma explotación con animales de raza Charolais, de forma que el semental de esta raza cubre a las vacas pajunas (Sánchez Belda, 2002). En la Sierra Nevada almeriense queda tan solo un pequeño lote de 13 ejemplares.

### **Canaria.**

La Vaca Canaria, denominada Vaca del País, Criolla o Basta, se distingue por su gran rusticidad (austeridad) y su carácter manso. La raza bovina Canaria parece tener su origen por la llegada de animales con destino hacia América procedentes de los principales puertos peninsulares, ubicados en el Norte y Sur de la Península Ibérica (Zamora y col., 2004). Esta raza se formó en las Islas Canarias, por el cruzamiento arbitrario de las razas bovinas españolas: Rubia Gallega, Leonesa, Asturiana de los Valles y de la Montaña Pirenaica y Retinta llevadas durante la conquista. En siglos posteriores ha dado lugar a una raza propia cuyas características aparte de su morfología son apreciables por su marcada rusticidad, carácter manso y gran longevidad. Es una herramienta multiusos (trabajo, leche, carne y estiércol). Su censo actual es de aproximadamente 2000 animales adultos (Zamora y col., 2004).



**Palmera.**

Así denominada por ser oriunda de la isla de La Palma, perteneciente a la provincia de Tenerife, del archipiélago Canario. Forma una pequeña raza local, de reducido efectivo.

Por la estrecha semejanza y los antecedentes presentes en el archivo del Cabildo insular, se atribuye su origen a la Rubia Gallega, es de color claro, donde se da esta capa en considerable proporción. Es una raza de triple aprovechamiento, si bien es una buena raza de carne, es sometida a ordeño y mantiene su contribución al trabajo agrícola. El censo de la raza es de 606 vacas.

**Razas Exóticas.**

La primera importación de cabezas de ganado bovino fue en 1521 durante la conquista de la Nueva España, realizada por Gregorio Villalobos. Desde ese momento y hasta finales del siglo XIX este ganado de origen español prevaleció como única raza existente, reconocido como "Criollo" (Suárez y López, 1997). Posteriormente, en 1886 se realizaron las primeras importaciones de ganado especializado en la producción de carne principalmente Hereford y Suizo Pardo, para la región norte del país. En 1925 arribó a México el ganado Angus y en 1929 - 1930 fueron importados los primeros Charoláis. (Fernández Haddad, 2003). Es conveniente aclarar, que la denominación de "Criollo" en México, describe a algún animal que no tenga fenotipo definido de alguna de las llamadas razas puras no cebuína, por lo que pueden tener influencia de alguna otra raza europea, no precisamente española. A continuación se describen algunas de las razas europeas, que por su presencia, prácticamente mundial, pueden tener alguna influencia en las poblaciones criollas actuales de América

**Holstein.**

La raza Holstein tiene como sus ancestros más remotos los animales negros de los bávaros y los blancos de los frisios, tribus que hace cerca de 2.000 años se ubicaron en el delta del Rin.

Por sus características únicas de color, fortaleza y producción, la Holstein empezó a diferenciarse de las demás razas, y pronto comenzó a expandirse por otros países, empezando por Alemania, y desde hace acerca de 300 años está consolidada en lugar de privilegio en el hato mundial por su producción y su adaptación a diferentes climas. Debido a sus características es probablemente la raza causante de la reducción y extinción otras razas bovinas productoras de leche, ya sea por la absorción o reemplazo de esos animales.

**Suizo Pardo**

El suizo es una de las razas europeas de mayor antigüedad, ésta llegó a México a fines del siglo XIX y se ha convertido con los años en la raza de doble propósito más difundida en el país. Aunque otras fuentes indican que se importaron por primera vez a México alrededor de 1800, utilizándolo para mejorar el ganado nativo. Se han mantenido dos líneas diferenciadas, el tipo europeo y el tipo americano (Fernández Haddad, 2003).

El tipo Suizo Pardo Europeo (Braunvieh) por su productividad es mundialmente reconocido como de doble propósito, es decir produce leche y carne con excelente rendimiento. México posee el hato más grande en esta raza. En cinco generaciones están denominados ya como "pura sangre".

El Suizo Pardo Americano presenta un tipo más angulado y especializado en producción de leche.

### **Hereford**

Es una de las razas con libro genealógico más antiguas, desde 1878. Se fundó en Herefordshire, Inglaterra con la finalidad de producir carne de calidad. La primera importación a América fue hacia Estados Unidos en 1817 (un macho y dos hembras); y el primer ható se formó en 1840.

Es una raza de capa color rojo y la cara debe ser blanca, extendiéndose el blanco al pecho, vientre, ingle y extremidades, desde garrón y rodilla hacia abajo. El penacho de la cola debe ser blanco. Las mucosas son rosadas. Utilizado para la producción de carne.

### **Razas Cebuinas.**

Como se mencionó anteriormente, en 1923 se efectuó la primera importación de ganado cebuino, y hasta la fecha sigue entrando semen y embriones de las razas Nelore y Gyr, principalmente. La gran adaptación que en general tienen a los ambientes hostiles, donde sobreviven aun consumiendo poca pastura y de mala calidad, además de la resistencia a los ecto y endo parásitos y a que soportan temperaturas altas, que otras razas no resisten, ha ocasionado que prácticamente desaparezcan los animales Criollos en las zonas accesibles. Aunque las razas cebuinas se mantienen en cruzamientos, principalmente.

### **Brahman**

A partir de 1848 comienza a introducirse ganado Cebú en EE.UU., procedente primero de la India, luego de Brasil y algo de Sudáfrica. Se importaron las razas Nelore, Guzerat, Gyr y otras varias más. Todas estas razas se amalgaman con la designación genérica de Brahman, que luego fue aceptada oficialmente por el Departamento de Agricultura de los EEUU. Alrededor de 266 machos y 22 hembras se importaron desde la India y Brasil y dieron origen a la raza, por lo que se supone que también lo hicieron sobre vientres taurinos

Se caracteriza por su gran desarrollo muscular especialmente de los cuartos posteriores, orejas grandes y pendulosas, cuernos cortos y curvos hacia atrás y el prepucio es más penduloso. El color de la capa varía entre el blanco, gris y casi negro. Posee una gran giba que es de sus principales diferencias con las razas taurinas. Es muy rústico, con gran adaptación a zonas tropicales.

### **Gyr**

El primer ganado Gyr en América fue llevado a Brasil, país en donde se difundió ampliamente en las provincias centrales y sureñas. El ganado Gyr mexicano es de estirpe brasileña. Se le exportó de Brasil a Estados Unidos para formar el Brahman Rojo.

Es una raza de talla media, siendo su distinción sobre las demás razas la conformación de su cabeza, que posee frente muy amplia y convexa, haciéndola inconfundible. Los cuernos son caídos y dirigidos hacia atrás, algo hacia afuera y con curvatura hacia arriba. Las orejas son largas y colgantes terminadas en punta y con una muesca.

Su piel es colgante y floja; el color típico es blanco moteado de rojo habiendo estirpes con más rojo que blanco, encontrándose ejemplares en el que se da el caso de ruanismo.

El cuello es corto y grueso en los toros, y fino en las vacas. La giba es grande y en forma de riñón. El dorso y el lomo son anchos y horizontales, lo mismo que la grupa.

### **Nelore.**

Su nombre original es Ongolé, pero en Brasil lo mejoraron para la producción de carne, cuando realizaron las primeras importaciones lo denominaron Nelore, por el nombre del lugar de origen en la India.

Se distingue por su cabeza pequeña orejas y cuernos cortos. El color de su capa va del gris claro al blanco. Su distribución en México no ha sido tan prospera como otras razas cebuinas, como sucede en Brasil.

### **Holandocebú**

Esta es una raza sintética producto de la cruce de la Holstein y Cebú, en proporción de 5/8 y 3/8, respectivamente. Son animales muy diseminados en el trópico mexicano, principalmente en la región costera del Golfo de México. En el libro genealógico hay aproximadamente 3,000 animales pero sigue abierto el libro de registro. El prototipo de la raza aun está por definirse, su finalidad es la producción de leche en regiones tropicales.

## ***Diversidad Genética***

Por diversidad genética se entiende la variación de los genes dentro de cada especie. Esto abarca diversidad dentro de la misma población o la variación genética entre poblaciones. Las diferencias genéticas que ocurren naturalmente entre los organismos dentro de las especies se ponen de manifiesto mediante polimorfismos genéticos, los cuales se acumulan hasta que se produce la diversidad entre especies, lo que se denomina divergencia genética. Los animales domésticos ofrecen un recurso único para estudiar la diversidad genotípica dentro y entre razas o poblaciones (Andersson, 2001).

La función de la diversidad genética (o carga genética) es la de mantener un reservorio de condiciones de variación que le permitan responder al medio, y así, se logre la adaptación y la supervivencia. Ante ello, la repercusión de cualquier alteración en la diversidad genética (reservorio) es incierta, pero con una tendencia a la extinción.

Cada uno de los genes diferentes presentes en el mundo hace una contribución única a la diversidad genética total. En particular, los genes que controlan los procesos bioquímicos fundamentales se conservan y generalmente muestran poca variación; aunque la variación sea pequeña, puede ejercer un fuerte efecto sobre la viabilidad del organismo. Como ejemplo está el asombroso nivel de variación molecular en el sistema de inmunidad de los mamíferos, que está determinado por medio de un número pequeño de genes heredados.

Cuando en una especie la variabilidad genética es grande, sus posibilidades de sobrevivir o de sobreponerse a una crisis son mayores. Cuando en una especie hay muy pocos organismos diferentes entre sí, su fortaleza para resistir las adversidades disminuye. Con la domesticación la diversidad genética originalmente se incrementa, formando razas en cada región agroecológica, sin embargo, al irse uniformizando los sistemas de producción tipo industrial, se requieren individuos más parecidos, por lo que los programas de selección son la principal causa de la pérdida de diversidad genética dentro de la población. Al generalizarse los sistemas de producción en el mundo, la variación entre poblaciones disminuye, poniendo en riesgo la capacidad de adaptación de la especie.

Debido a que existen varias maneras de medir la variación genética, la FAO tuvo la iniciativa denominada MoDAD (Measurement of Domestic Animal Diversity), con objeto de generar recomendaciones técnicas para realizar estudios en animales de granja (<http://dad.fao.org/en/refer/library/guidelin/workgrp.pdf>,

<http://dad.fao.org/en/refer/library/guidelin/marker.pdf> y  
[http://dad.fao.org/en/refer/library/guidelin/ISAG\\_2004\\_Poster\\_markerlists.pdf](http://dad.fao.org/en/refer/library/guidelin/ISAG_2004_Poster_markerlists.pdf) )

(Hoffmann y col., 2004), posteriormente, se realizó una recopilación de resultados en

la que se resumen los resultados en todas las especies (Baumung y col., 2004). En este trabajo se hace una revisión de la metodología empleada en los estudios de diversidad en los principales grupos de investigación sobre el tema en el mundo.

### **Estructura genética de las poblaciones**

La tasa de mutación en múltiples *loci* es suficiente para producir un alto nivel de diversidad en corto tiempo (Kimura y Ota, 1971). Estos autores establecen que la mayoría de los cambios en la estructura genética de una población en el ámbito molecular, son causados por la deriva génica actuando sobre *loci* neutros expuestos a una mutación recurrente. Por otra parte, en adición a la deriva génica, la migración también contribuye en la modificación de las frecuencias alélicas (Farnir y col., 2000). En el caso, de las poblaciones criollas de México, al momento de su expansión cuando sucedió la colonización española se establecieron en un régimen asilvestrado sufrieron un proceso de cuello de botella y que al crecer la población se produjeron cambios debido a la deriva génica. Posteriormente, se formaron poblaciones pequeñas que se fueron aislando por la distancia geográfica. Cuando el proceso de aislamiento persiste por varias generaciones, las principales fuerzas de cambio genético la migración y la deriva génica, llevando como consecuencia a la subdivisión de esas poblaciones. Debido al método de explotación, se produjeron migraciones extensas por todo el país, provocando intercambio genético. La migración tiene como consecuencia, que las frecuencias alélicas tienden a ser similares a las de poblaciones próximas y se van diferenciando conforme la distancia geográfica se incrementa (Barbujani, 1997, 2000; Manel y col., 2003).

Basados en la teoría de la evolución, todos los individuos de todas las especies, son en cierto grado consanguíneos, pues todas descienden de un ancestro común; sin embargo, el ancestro común debe ser demasiado lejano, para que el concepto pierda significado (Cavalli-Sforza y Bodmer, 1971).

### **Importancia de la caracterización de los recursos genéticos.**

Los animales de granja son vitales para la producción de alimentos, y aportan del 30 al 40 % del valor económico del sector agrícola. Alrededor de dos mil millones de personas, un tercio de la población mundial, depende, por lo menos en parte, de los animales domésticos para ganarse el sustento. La producción de carne, leche y huevos necesitará duplicarse con creces en los próximos 20 años para alimentar a la población del mundo en aumento (Cardellino, 2003).

El Banco Mundial de Datos sobre los recursos genéticos de animales de granja de la FAO ([www.fao.org](http://www.fao.org)), contiene información de 6,379 variedades de 30 especies de mamíferos y aves. La base de datos contiene información sobre el censo de la población de 4,183 razas. Ya están registradas como extintas 740 razas, y otras 1,335, un 32 %, están clasificadas como en elevado riesgo de pérdida o amenaza de extinción.

Cualquier programa de conservación eficaz, a escala mundial y para cada especie, debe comenzar con la identificación y la enumeración de las poblaciones animales; su descripción y caracterización, para determinar sus cualidades particulares y sus posibles contribuciones, para comprender cuales pueden potencialmente proveer la mayor variedad de contribuciones futuras. La conservación es a menudo vista como la simple acumulación de semen y/o embriones, pero esto sólo no permite realizar un programa eficaz a nivel nacional, regional o internacional para el mantenimiento y la mejor utilización de la diversidad genética animal.

Existen varios factores responsables de la disminución de la diversidad genética animal, en particular en los países en desarrollo (Cardellino, 2003):

- 1) La disminución de la variabilidad genética dentro de razas; esto es básicamente un problema de las razas o líneas altamente productivas; la pérdida de variabilidad

genética es alarmante, se ha demostrado que aproximadamente el 50% de los casi 5,000 sementales Holstein nacidos en 1990 en 18 países, provienen de solo 5 sementales (Wickham y Banos, 1998).

- 2) La rápida desaparición de razas locales y líneas de animales domésticos, a través de la introducción y cruzamiento indiscriminado con razas exóticas. Esas poblaciones de animales altamente productivos han desplazado a las razas locales originales, aunque sistemas de producción diferentes o sistemas de producción orgánicos o ecológicos, pueden requerir diferentes tipos de animales. Por ejemplo, los genotipos que sean capaces de adaptarse a condiciones locales como el caso de las razas tripanotolerantes como la N'dama en el oeste de África (Achukwi y col., 1997). Dentro de razas, el cambio genético que se puede realizar por unidad de tiempo es una función de las varianzas genética y ambiental, mientras que el índice del cambio entre las razas es una función del rango de variación (Rege y Gibson, 2003). Teniendo en cuenta esto, para la mayoría de las características y de los sistemas de producción, está claro que el recurso más valioso en términos de proporcionar una rápida adaptación a la enorme diversidad de los sistemas de producción y para proporcionar flexibilidad para responder a los ambientes que cambian, es la variación entre las razas.
- 3) La desaparición de los ecosistemas en los cuales se desenvuelve una raza determinada, los sistemas de producción tradicionales tienden a desaparecer o bien, la población migra a lugares más favorecidos. En este aspecto juegan un papel importante las guerras, epizootias y desastres naturales.
- 4) Cambios en las preferencias hacia otras razas, catalizado por las políticas no sostenibles de corto plazo, o bien por cambios en los requerimientos del mercado.

La conservación de recursos genéticos tiene algunas particularidades que se deben tomar en consideración. En el caso de las razas, una puede reemplazar funcionalmente a otra, el flujo de genes es físicamente posible y la mezcla de razas es posible. La diversidad genética entonces puede definirse dentro y entre razas. La diversidad dentro de raza generalmente se pierde por deriva génica y conduce a un exceso de homocigosis. Muchas poblaciones presentan problemas por el tamaño efectivo, el cual tiene que ver con el número de machos y hembras. Por tanto, la conservación trabaja en incrementar el tamaño efectivo de la población evitando apareamientos entre individuos relacionados (Simianer, 2005b).

En los países en desarrollo donde hay incertidumbre debido a las condiciones futuras de producción y de mercado, donde, además se aplican sistemas de producción en ambientes desfavorables, la conservación de la diversidad genética de las razas locales con planes de mejoramiento, tiene gran importancia, porque representan recursos alternativos para mantener la producción animal, en situaciones en que se produzca algún cambio drástico de tipo ambiental o económico. Por lo tanto, tiene más sentido la introducción de nueva tecnología en los países en desarrollo, para conservar y mejorar sus recursos locales, que la introducción de razas no adaptadas provenientes de zonas agroecológicas diferentes (Segura-Correa y Montes-Perez, 2001).

En América Latina existe una amplia diversidad de recursos genéticos animales, los cuales son utilizados en diferentes sistemas y bajo variadas condiciones ecológicas y sociales. Algunos de estos recursos poseen características que son únicas y están adaptados a ambientes específicos, aunque actualmente, están sufriendo una dilución genética o extinción.

En México, aún existen poblaciones de animales Criollos no bien definidas, debido a que se encuentran separadas geográficamente, con una multitud de tipos locales. Estos animales presumiblemente están bien adaptados a las condiciones climáticas y de manejo de la región; sin embargo, aún cuando esos animales están siendo utilizados no han sido caracterizados y se encuentran bajo la amenaza de una dilución genética o reemplazo por animales mejorados.

## **Identificación de las poblaciones bovinas a conservar.**

La identificación de poblaciones definidas de animales domésticos, es compleja, si se considera que las razas son el resultado de un proceso evolutivo relativamente reciente. Por lo tanto, puede existir algún grado de mezcla o de cruzamiento, por lo que los estudios basados en distancias genéticas, por razones de conservación, tienen un valor limitado (Ruane, 1999). Cuando se trata de conservar poblaciones animales, el criterio preponderante es el tamaño de la población, aunque existan métodos científicamente sofisticados que ayuden a tomar una mejor decisión, como el modelo econométrico de Weitzman (Weitzman, 1992), que utiliza información genética y no genética, para calcular un árbol por máxima verosimilitud y la diversidad actual de un grupo de especies y evaluar el cambio en la diversidad al paso de un determinado tiempo. Este método se ha utilizado con razas africanas (Reist-Marti y col., 2003) y europeas (Cañon y col., 2001). Sin embargo utilizar solo un criterio para la conservación de una raza, no es suficiente, ni siquiera el tamaño efectivo de la población ( $N_e$ ) (Reist-Marti y col., 2005)

El número de alelos como criterio para determinar si una población está en peligro de extinción ha sido uno de los objetivos principales (Petit y col., 1998). En un trabajo realizado por Simianer (2005b), en donde se propone una metodología para determinar si es conveniente conservar una raza, considera que la pérdida de alelos es más importante por la deriva génica que por la extinción de una raza. Además, incrementando el tamaño de población un 10% se produce el mismo efecto que alargando del intervalo generacional un 10%.

Medir la diversidad a través de los marcadores ha demostrado ser una forma efectiva. La reducción de la deriva dentro de raza es mucho más efectiva que prevenir la extinción. En términos monetarios, resulta un 60% más eficiente gastar fondos en prevenir la deriva, que en tratar de rescatar algunas razas. Aunque los métodos para medir la diversidad se basan en las frecuencias génicas, no es eficiente promover la diversidad basados en esta diferencia. En principio, aunque la información obtenida con los marcadores moleculares es fundamental para seleccionar una raza para conservación, es muy arriesgado condenar a otra a su no conservación basándose sólo en esta información.

Otros autores, sugieren que la utilización de marcadores de ADN en estudios de diversidad es valiosa porque llena algunos vacíos existentes, sin embargo, la elección de las razas a conservar, debe considerar también otros criterio, como el grado de amenaza, características de importancia económica o científica, y valores ecológicos, históricos y culturales (Talle y col., 2005a).

La decisión de cuales poblaciones conservar, debe ser tomada en forma objetiva reflejando el valor futuro esperado sobre las poblaciones conservadas.

Los sistemas de producción animal han cambiado mucho en los últimos 50 años y no hay razón para pensar que no suceda lo mismo en los próximos 50, lo mismo es cierto para las características de mercado (Simianer, 2005a).

Sin embargo, la decisión de cuales poblaciones conservar no se puede tomar desde el punto de vista científico, sino desde el punto de vista político, por ejemplo, desde la óptica de la diversidad la perspectiva debe ser global, pero desde el punto de vista de conservación, se toman decisiones a escala local, regional o nacional (Simianer, 2005a).

Otro problema a considerar, es que el retorno económico de la población a conservar, no necesariamente es en dinero, sin embargo, la decisión de conservarla, conlleva un gasto económico. En ambas situaciones, la decisión se tomaría fácilmente si se tuviera la relación costo/beneficio. Se debe reconocer que no es posible conservar todas las poblaciones amenazadas, pero se debe procurar mantener la mayor diversidad dentro de especies. La mayoría de las especies domésticas están distribuidas mundialmente, por lo que la conservación de la diversidad debe ser una tarea internacional, contrario

a esto, las decisiones se toman generalmente a nivel nacional (Signorello y Pappalardo, 2003).

Finalmente, aunque el grado de amenaza es relevante, no es el único ni más importante criterio a considerar en las prioridades de conservación, pues en algunos casos, es más rentable dejar que se extinga una población altamente amenazada y conservar otra que tenga posibilidades y no despilfarrar los recursos (Simianer y col., 2003). En este contexto, es importante integrar información respecto a la estructura filogenética, grado de amenaza y algunos otros factores que permitan tomar la decisión apropiada.

### **Los marcadores moleculares en la caracterización genética.**

Recientemente ha habido numerosos trabajos que describen la diversidad genética de las poblaciones bovinas locales, las cuales son caracterizadas fenotípicamente y genéticamente para priorizar su conservación (Talle y col., 2005a; van Marle-Koster y Nel, 2003).

Generalmente los estudios de diversidad genética tienen como objetivo estimar parámetros que permitan analizar la variabilidad genética dentro de una población (Ginja, 2002). Esto se logra a través de: la determinación de las frecuencias alélicas por población y por locus, calcular la Heterocigosidad esperada, también denominada índice de diversidad genética, determinar las distancias genéticas entre poblaciones o entre individuos, detectar la estructura de la población. Inicialmente se utilizaron los polimorfismos bioquímicos como marcadores dentro de los más destacados están los polimorfismos de proteínas que frecuentemente se encuentran en el citoplasma celular, como las enzimas que a pesar de catalizar un sustrato único presentan formas alternativas que difieren en su composición aminoacídica a causa de mutaciones no sinónimas en el ADN. La presencia de formas alternativas de una misma enzima (isoenzimas) se puede detectar en electroforesis como polimorfismos codominantes. Se han realizado trabajos para detectar hibridación de *Bos taurus* y *Bos indicus* (Ceriotti y col., 2003; Ibeagha-Awemu y Erhardt, 2005). Un uso muy importante de las proteínas es su como marcadores genéticos de características de importancia económica, como la  $\kappa$ -caseína y la  $\beta$ -lactoglobulina (Bovenhuis y col., 1992)

Los marcadores moleculares se han empleado en trabajos muy diversos como en la caracterización racial estableciendo relaciones entre diversas razas bovinas (Cañon y col., 2001; Freeman y col., 2006; Jordana y col., 2003; Machugh y col., 1994; MacHugh y col., 1998; Moazami-Goudarzi y col., 1997; Moazami-Goudarzi y col., 1994). Además se han utilizado para detectar situaciones de "cuello de botella" (Ramey y col., 2000; Spencer y col., 2000), consanguinidad (Chikhi y col., 2004; Pariset y col., 2003), migración (Hanotte y col., 2002; Wilson y Rannala, 2003), filogenia (MacHugh y col., 1997; Mommens y col., 1999; Pepin y col., 1995; Ritz y col., 2000), hibridación entre poblaciones (Freeman y col., 2006; Freeman y col., 2004; Kumar y col., 2003) o, tamaño efectivo de las poblaciones (Hayes y col., 2003). También han resultado muy útiles en la selección asistida por marcadores y la generación de mapas cromosómicos, (Schnabel y col., 2005; Snelling y col., 2005; Zhang y col., 2004). En los esquemas de selección son de gran ayuda en los análisis de paternidad y parentesco (GlowatzkiMullis y col., 1996; Vankan y Faddy, 1999; Weller y col., 2004; Werner y col., 2004), recientemente en la fiscalización de la trazabilidad de los productos animales (Sancristobal-Gaudy y col., 2000; Shackell y col., 2005; Vazquez y col., 2004). Como herramientas para seleccionar poblaciones que deben ser conservadas también son de gran utilidad (Gandini y col., 2004; Hanotte y Jianlin, 2005; Rendo y col., 2004). En algunos casos forenses para detectar individuos cazados en poblaciones protegidas, también han resultado de gran utilidad los microsatélites (Manel y col., 2002).

En México han sido muy pocos los trabajos realizados en el área de caracterización genética de los bovinos Criollos (Russell y col., 2000; Ulloa Arvizu, 2001). Se desconoce cual es su importancia en términos de conservación, puesto que no se ha realizado ningún estudio sobre el grado de amenaza de dichas poblaciones.

Existen numerosos métodos para detectar la variación genética. Los marcadores moleculares son segmentos de ADN con una localización física identificable que pueden utilizarse para construir mapas cromosómicos que muestran la posición de genes conocidos u otros marcadores. Cada uno tiene sus alcances y limitaciones y se han desarrollado para diferentes casos (van Marle-Koster y Nel, 2003). A continuación se da una descripción muy breve de los más importantes.

### **RFLP (Restriction Fragment Site Length Polymorphism).**

Mediante cortes de determinadas secuencias del ADN con enzimas de restricción, que reconocen específicamente tales sitios, se generan fragmentos de diferente tamaño (fragmentos de restricción) que hibridan con sondas de ADN (Southern, 1975). En la población algunas secuencias de ADN contienen sitios particulares de restricción, mientras que en otras homólogas faltan a causa de la mutación. Los individuos que presentan un sitio de restricción determinado en ambas secuencias homólogas serán homocigotos y generarán una sola banda electroforética. Los individuos con un sitio de restricción presente en un cromosoma pero no en el homólogo serán heterocigotos y generarán dos bandas electroforéticas. Estos polimorfismos son codominantes. Se han utilizado para estudiar el polimorfismo de algunos genes codificantes como la prolactina (Udina y col., 2001), la hibridación entre poblaciones *Bos taurus* y *Bos indicus* (Nijman y col., 1999), en medicina forense, tanto en poblaciones humanas como en animales (Bravi y col., 2004), en el mapeo de cromosomas (Beever y col., 1994). También se han utilizado para detectar la relación que existe entre las poblaciones bovinas, utilizando el ADN mitocondrial (Du y col., 2005).

Fueron los primeros marcadores moleculares de ADN que se utilizaron en estudios de caracterización del genoma, pero en el caso de especies ganaderas no se han utilizado mucho debido a que es una técnica cara y laboriosa. Otra desventaja es que los resultados obtenidos en un ensayo, no son fácilmente comparables a otros, ya que las condiciones de restricción y de separación de bandas de ADN pueden variar de un experimento a otro y además, requieren grandes cantidades de ADN (Bishop y col., 1995).

### **AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism).**

Esta técnica consiste en la amplificación selectiva, mediante PCR, de fragmentos de restricción a partir de ADN genómico. La técnica consta de tres pasos:

- Digestión del ADN con dos enzimas de restricción distintas.
- Ligamiento mediante una ADN ligasa de adaptadores oligonucleotídicos (secuencias cortas) de unos 20 nucleótidos, de doble cadena sintetizados *in vitro*) a los extremos de los fragmentos producidos.
- Amplificación selectiva de los fragmentos de restricción mediante PCR.

Tras el análisis de los fragmentos amplificados mediante electroforesis en geles de poliacrilamida se obtienen patrones de bandas complejos pero repetibles de un experimento a otro.

En esta técnica la PCR es específica e independiente de la concentración de ADN molde y se eliminan los problemas de repetibilidad que presentan los RAPDs. Los polimorfismos que se detectan corresponden a mutaciones puntuales, inserciones o deleciones que afectan a dianas de restricción. Se manifiestan como ausencia o presencia de bandas por lo que son marcadores dominantes y por tanto, son menos informativos para ser usados en análisis de ligamiento que los marcadores codominantes. Esta técnica se desarrollo inicialmente para el análisis del genoma de plantas y después ha empezado a utilizarse en animales habiendo despertado un



enorme interés en estudios de identificación, para la elaboración de mapas genéticos y para el establecimiento de relaciones genéticas entre individuos.

Se han utilizado en pruebas de parentesco, diversidad genética, estructura genética de las poblaciones, identificación de híbridos y reconstrucción filogenética (Bensch y Akesson, 2005). Esta herramienta se ha utilizado para caracterizar la diversidad genética, como el caso de los cerdos europeos (SanCristobal y *col.*, 2006), para detectar la hibridación entre subespecies bovinas (Nijman y *col.*, 2003), para evaluar la diversidad genética, como el caso de las cabras italianas (Ajmone-Marsan y *col.*, 2001), como un marcador que ayuda a la selección de características productivas, como el caso del marmoleo de la carne de los bovinos negros japoneses (Tsuji y *col.*, 2004).

### **RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)**

Se conocen también como Arbitrary Primed PCR (AP-PCR). Con este método no se requieren sondas de ADN ni información previa acerca de la secuencia como en los RFLPs. En este método se usa un conjunto de iniciadores de PCR de 8 a 10 pb cuya secuencia es aleatoria. Se generan un conjunto de bandas electroforéticas que indican la presencia de fragmentos de ADN que son dominantes sobre su ausencia. La ventaja de la técnica RAPD es que no se requiere conocer la secuencia del ADN a estudiar. En la técnica RAPD-PCR, se amplifican fragmentos aleatorios de ADN que posteriormente se visualizan mediante electroforesis en gel y posterior tinción. Los niveles de polimorfismo son generalmente altos para la mayoría de los cebadores. Tiene como desventaja que como los resultados de la amplificación son muy sensibles a las condiciones de la reacción (concentración de magnesio, tipo de cebadores, concentración de ADN, etc.), éstas deben ser cuidadosamente controladas para lograr repetibilidad y evitar posibles variaciones entre laboratorios e incluso entre experimentos (Bensch y Akesson, 2005).

Los polimorfismos generados con RAPD-PCR son marcadores genéticos multialélicos, multilocus y dominantes, con herencia mendeliana. Su carácter dominante (los heterocigotos usualmente no son detectables) los hace menos informativos para su aplicación a la elaboración de mapas genéticos, sin embargo, son útiles en la detección de genes singulares y como marcadores en la identificación de estirpes o variedades (Alves y *col.*, 2005). Esta técnica se ha utilizado mucho en estudios de genética de poblaciones en plantas, pero no tanto en animales domésticos. Un inconveniente importante de este método es su baja repetibilidad. Recientemente, en una revisión sobre la estructura genética de plantas hecha por Nybom (2004), demostró que los valores de  $F_{st}$  obtenidos con RAPD eran similares a los obtenidos en microsatélites o aloenzimas. Sin embargo, a partir de datos simulados mostró que se requieren de 4 a 10 veces más *loci* en marcadores dominantes para obtener la misma precisión. No obstante se han desarrollado estudios de diversidad genética (van Marle-Koster y Nel, 2003), como el trabajo desarrollado para detectar diferenciación genética en poblaciones de los bovinos Criollos Uruguayos (Rincon y *col.*, 2000).

### **Minisatélites de ADN**

El polimorfismo consiste en la existencia de un número variable de repeticiones en tándem, de una secuencia básica que oscila entre 6 y 100 nucleótidos. Se detecta mediante electroforesis. El número de veces que se repite el motivo de repetición varía mucho lo que los hace muy útiles como marcadores genéticos. A causa de su gran variabilidad, también se les denomina VNTRs (variable number tandem repeats) (Nakamura y *col.*, 1987). Fueron encontrados por primera vez en seres humanos por Jeffreys y *col.* (1985) y posteriormente se han descrito en otras especies (Georges y *col.*, 1988). El estudio de los minisatélites suele realizarse utilizando la tecnología de hibridación ADN-ADN (Southern, 1975) que es muy larga y laboriosa, además de que requiere mucha cantidad de ADN de gran calidad para su ejecución. A pesar de su

polimorfismo, los minisatélites prácticamente no se utilizan en estudios de diversidad genética debido a las dificultades técnicas que entrañan su gran tamaño y el elevado número de repeticiones que presentan.

### **SNP's (Single nucleotide polymorphisms)**

Cuando los polimorfismos se originan por la aparición de mutaciones puntuales, como inserciones o deleciones, en lugares que no afectan a ninguna diana de restricción conocida, los fragmentos de DNA variantes pasarían inadvertidos con los sistemas de detección anteriores. A estas variaciones se les denomina SNPs (single nucleotide polymorphisms). Los SNPs son las variaciones más comunes en el genoma humano, calculándose que existen cada 100-300 pb. Se encuentran en posiciones definidas del genoma llamadas STS (sequence tagged sites) y se pueden usar para la elaboración de mapas genéticos, para definir la estructura genética de una población o para realizar estudios funcionales. Se espera que puedan usarse para realizar estudios genéticos a gran escala como determinar el ligamiento entre las variaciones de una secuencia y los fenotipos heredados. También podrían ser una herramienta eficiente para la identificación genética en aplicaciones legales y forenses. Son muy interesantes como marcadores genéticos ya que muchas enfermedades conocidas, como por ejemplo la anemia falciforme en humanos, se produce por mutaciones de una simple base.

Algunas ventajas de los SNPs sobre otros marcadores genéticos son que se presentan en un gran número de localizaciones, están distribuidos uniformemente por todo el genoma y están en regiones codificantes, en intrones y en regiones que flanquean los genes, las técnicas empleadas para su detección son simples y producen patrones de lectura no ambiguos, siguen una herencia mendeliana, presentan una baja tasa de mutación y una alta Heterocigosidad en las poblaciones.

La detección de estos polimorfismos se realiza mediante métodos directos (secuenciación) o indirectos (SSCP, AS-PCR y Chips entre otros) (Vignal y col., 2002).

### **Microsatélites.**

Desde los tiempos de Mendel hasta principios de la década de los 1980's los únicos marcadores genéticos de un simple locus eran los marcadores fenotípicos, tales como color de los ojos, polimorfismos de las proteínas o grupos sanguíneos.

El término satélite de ADN se originó en la década de 1960 cuando una fracción de ADN mostró una densidad distinta, detectable como un pico satélite en un gradiente de densidad por centrifugación, posteriormente se identificó como un centrómero con repeticiones en serie. Cuando las repeticiones en serie fueron más pequeñas (10-30 pb) se identificaron posteriormente como minisatélites, finalmente con la identificación de las secuencias pequeñas se acuñó el término de microsatélites (Ellegren, 2004).

Los microsatélites están entre las secuencias más variables de ADN y esta variabilidad está dada por la longitud de la cadena. Por otra parte, la variabilidad genética de estos *loci* se caracteriza también por la alta Heterocigosidad por la presencia de muchos alelos. Con el advenimiento de la PCR a finales de los 1980 el análisis y el genotipado del polimorfismo de los microsatélites tomaron mucho auge. Rápidamente se convirtieron en los marcadores de elección en mapeo genómico, y posteriormente en estudios de genética de poblaciones. Gerber y col. (2000), calcularon que se requieren 159 *loci* AFLP, para obtener aproximadamente la misma precisión para determinar la paternidad que seis marcadores microsatélites.

El origen de este polimorfismo está aún bajo debate, aunque lo más probable es que se deben a deslizamientos de la polimerasa durante la replicación del ADN (Schlotterer y Tautz, 1992). Se caracterizan por estar distribuidos por todo el genoma y ser muy abundantes; además, son muy polimórficos por lo que se utilizan ampliamente

como marcadores genéticos. Fueron descritos por primera vez como marcadores de ADN polimórficos en 1989 (Tautz, 1989), y desde entonces, han probado ser una herramienta excelente para hacer mapeo genético en varios organismos (Ashwell y col., 1996; Solignac y col., 2004; Thieven y col., 1997; Vaiman y col., 1995), estudios forenses (Huang y col., 2003), estudios genéticos de manejo y conservación de poblaciones (Cañon y col., 2001; de Gortari y col., 1997; Dorji y col., 2003; Halbert y col., 2005). Estos marcadores en especies domésticas, se utilizan además para control de paternidad (Baron y col., 2002; Bredbacka y Koskinen, 1999; Radko y col., 2004), detectar poblaciones consanguíneas (Chikhi y col., 2004), estudios filogenéticos (Mommens y col., 1999), examinar el ligamiento entre la distribución geográfica y genética de las poblaciones (Manel y col., 2003) y asignación de individuos a poblaciones (Baudouin y col., 2004; Maudet y col., 2002), entre otras.

Dentro de las ventajas de usar los marcadores microsatélites, esta la estabilidad del ADN lo que permite preservar muestras pequeñas de tejido, sangre o pelo para su almacenamiento. Además, debido a que los microsatélites son más pequeños que otros *loci* (de 100-300 pb vs 500-1500 pb) pueden amplificarse fácilmente con PCR incluso muestras muy degradadas (Taberlet y col., 1999). Cuando el ADN se degrada, se rompe en pequeños fragmentos y la posibilidad de amplificar microsatélites relativamente grandes disminuye (Frantzen y col., 1998). Por otra parte, como los microsatélites son específicos de especie, la contaminación cruzada es menos frecuente, comparada con técnicas en las que se utilizan cebadores universales como en los AFLP's (Selkoe y Toonen, 2006). Las regiones que flanquean a los microsatélites pueden ser regiones altamente conservadas entre especies próximas, que permiten la amplificación cruzada de algunos microsatélites; sin embargo, la diversidad alélica generalmente decrece cuando los cebadores utilizados no son específicos de especie (Neff y Gross, 2001).

Los marcadores microsatélites han tenido gran impacto en la genética de poblaciones; se han convertido en los marcadores co-dominantes de elección. Se utilizan para determinar la diversidad dentro de las razas, niveles de consanguinidad, diferenciación entre razas, introgresión o mezcla de razas y en estudios filogenéticos. Mutan a una tasa extremadamente alta y se piensa que evolucionan bajo el modelo de mutación por pasos (Stepwise Mutation Model), caracterizado por la adición o supresión de uno o más grupos de bases (Brinkman y col., 1998; Xu y col., 2000), aunque los dinucleotídicos, tienen un modelo de mutación más parecido al modelo de alelos infinitos (IAM) (Shriver y col., 1993). Se ha observado que los microsatélites más largos tienden a acortarse cuando ocurre una mutación (Calabrese y col., 2001). La alta tasa de mutación conduce a varios problemas: la probabilidad de diferenciar dos alelos (idénticos por descendencia o por estado) decrece conforme la tasa de mutación se incrementa (Rousset, 1996); las inferencias tomadas a partir del valor de  $F_{st}$ , como detectar el número de migrantes, pueden resultar sesgadas, por la imposibilidad de separar los efectos de mutación y migración (Balloux y col., 2000). Afortunadamente, se ha demostrado que cuando el proceso de mutación es con el modelo por pasos, la migración puede ser diferenciada del proceso de mutación (Rousset, 1996). Desafortunadamente, no se puede aplicar con la misma eficacia en los microsatélites dinucleotídicos donde la similitud no debida al parentesco (homoplasia) es frecuente.

### **Distribución de los microsatélites.**

El análisis inicial de la secuencia del genoma humano concluyó que los microsatélites eran aproximadamente el 3% del genoma. Hay más de 1,000,000 de *loci* microsatélites, la mayoría dinucleótidos en el genoma humano (International-Human-Genome-Sequencing-Consortium, 2001). Los datos del genoma del ratón han confirmado la abundancia de microsatélites pero han mostrado algunas diferencias, como que los microsatélites son de dos a tres veces más abundantes que en el

humano, los microsatélites son más largos en el ratón que en el humano (Ellegren, 2004). La densidad de los microsatélites parece estar positivamente correlacionado con el tamaño del genoma. De los genomas secuenciados de eucariontes la densidad más alta de microsatélites es en mamíferos. Asumiendo una escala genómica, las secuencias de microsatélites están en equilibrio, las diferencias en las secuencias en diferentes genomas, indican una fuerte variación interespecífica en los mecanismos de mutación o reparación de secuencias específicas, o bien, podría haber diferentes procesos de selección que están asociados con las distintas secuencias. Parece no haber distinciones en la densidad de microsatélites entre intrones y regiones intergénicas, lo cual es consistente con su base de origen neutral y aleatorio. Sin embargo, hay evidencia de densidad diferente entre regiones en el humano y el ratón, la densidad de los microsatélites es más alta cerca de los extremos de los brazos de los cromosomas. Aun no existe explicación para esta diferencia (Mouse-Genoma-Secquencing-Consortium., 2002).

Cada marcador microsatélite puede ser considerado como una muestra del genoma y debido a la deriva, selección, migración y mutación, diferentes *loci* en diferentes regiones del genoma tienen distintas historias genealógicas. Así, considerando un solo locus, se tiene un gran error en el muestreo; por lo tanto, tomando varias muestras, se tendrá un resultado más preciso que permita comparar poblaciones e individuos (Selkoe y Toonen, 2006).

En muchas especies, la distribución de los microsatélites en el cromosoma X es diferente que en los autosomas, lo que podría ser el resultado de diferentes tasas de mutación entre sexos, diferencias en el tamaño efectivo entre autosomas y cromosoma X y la eficiencia en la selección en cromosomas hemizogotos (situación en la que un individuo presenta sólo un miembro del par de cromosomas o un segmento del cromosoma) (Ellegren, 2004). La gran mayoría de los microsatélites de los organismos superiores se cree que evolucionan de forma neutral, sin embargo, algunos microsatélites están en las regiones promotoras y pueden estar en sitios de ligamiento de proteínas o cerca de estos. En ese caso el número de repeticiones del microsatélite tiene un efecto sobre la transcripción y el grado de ligamiento de las proteínas (Calabrese y Sainudiin, 2004) Algunos microsatélites también juegan un rol importante en algunas enfermedades de humanos. Al menos 16 desordenes neurológicos o neuromusculares son causados por microsatélites trinucleotídicos. Las repeticiones son polimórficas en las poblaciones normales y se cree que son fenotipos normales hasta que alcanzan un largo patológico característico de cada gen (Jasinska y col., 2003).

### **Mecanismos de mutación de los microsatélites.**

Para un marcador neutral, el grado de polimorfismo está en función de la tasa de mutación. La tasa y la dirección de la mutación constituyen dos factores básicos en la estimación de distancias genéticas, particularmente cuando se toma en cuenta el tiempo de divergencia entre dos poblaciones. Sin embargo, a pesar del extenso uso de los marcadores microsatélites en los últimos 20 años, algunos de los modelos teóricos fallan en la exactitud de la distribución de las frecuencias alélicas en poblaciones naturales. Parece ser que el proceso evolutivo ha sido más complejo de lo que los investigadores habían esperado (Ellegren, 2004).

La tasa de mutación de los microsatélites es más alta que las tasas de mutaciones puntuales, las cuales, están alrededor de  $10^{-9}$  a  $10^{-10}$  por locus por replicación. En humanos se ha estimado una tasa de  $10^{-3}$  y en ratones de  $10^{-3}$  a  $10^{-4}$  por locus por generación en los microsatélites (Dallas, 1992).

El principal mecanismo de mutación que induce el cambio de tamaño de los microsatélites es el deslizamiento de la polimerasa de la cadena modelo de ADN (Schlotterer y Tautz, 1992). Durante la replicación de una región repetitiva, la cadena de ADN puede disociarse y después reasociarse incorrectamente, entonces la replicación es errónea, dando origen a una inserción o delección de la unidad de

repetición, alterando el largo de la secuencia. En el caso del ADN no repetitivo, las cadenas se reasocian de la misma manera en que estaban, previo al deslizamiento de la polimerasa, con el cambio de bases correspondiente en las dos cadenas; pero en el caso de las cadenas de ADN repetitivo, no es posible que se alineen correctamente, por lo que se forma un bucle en una de las cadenas y cuando las dos cadenas se disocian, una de ellas contendrá un microsatélite más largo que la otra (Calabrese y Sainudiin, 2004). Esas mutaciones dependen exclusivamente de la maquinaria de replicación del ADN y ocurren a tasas más altas de mutaciones en otro sitio, escapando de los mecanismos de reparación del ADN. Los microsatélites dinucleotídicos tienen una tasa de mutación menor que los tetranucleotídicos (Ellegren, 2004)

### **Modelos de mutación.**

Para muchas de las aplicaciones de los microsatélites en la conservación de recursos genéticos el modelo de mutación no es importante, sin embargo, algunas pruebas estadísticas basadas en la estimación de frecuencias alélicas ( $F_{st}$ ), se han diseñado asumiendo un modelo de mutación determinado. Tradicionalmente se ha utilizado el modelo infinitesimal (IAM) (Kimura y Crow, 1964) en el cual cada mutación crea un alelo nuevo, sin importar el alelo que le dio origen; este ha sido el modelo de elección debido a su simplicidad y fácil generalización. Se han propuesto una gran cantidad de modelos de la dinámica evolutiva de los microsatélites, la mayoría derivados del modelo de mutación por pasos SMM (Kimura y Ohta, 1978). La mutación en los microsatélites generalmente implica un cambio en el tamaño de una repetición, pero a veces, involucra varias unidades de repetición (Beckmann y Weber, 1992). Los errores durante la replicación del ADN generan mutaciones creando una distribución alélica en forma de campana (Ellegren, 2004)

La utilización de un modelo de mutación específico es esencial para la estimación de parámetros de las poblaciones (diferenciación genética, número de migrantes por generación, etc.) que es dependiente del modelo de mutación propuesto para los marcadores (Goldstein y Schlotterer, 1999).

Clásicamente se han propuesto para microsatélites dos modelos de mutación opuestos, el modelo infinitesimal y el modelo de mutación por pasos. El SMM describe la mutación de los alelos de los microsatélites por la pérdida o ganancia de una unidad de repetición de la serie y que puede mutar y convertirse en algún alelo ya existente en la población. En contraste, bajo el IAM, una mutación involucra cualquier número de repeticiones y siempre resulta en un alelo que no existía en la población.

El SMM tiene varios aspectos que lo hacen incompatible con la realidad; por ejemplo, no llega a ninguna distribución estable del largo de los microsatélites, además del hecho de que los microsatélites parecen mostrar un límite superior en tamaño, es incompatible con el SMM. Usando un modelo matemático Rose y Falush (1998) demostraron la existencia de un tamaño umbral mínimo que desencadenara mutaciones por deslizamiento de la polimerasa, estudiando la relación entre las frecuencias observadas y esperadas de los microsatélites. El tamaño estimado fue de 8 nucleótidos, sin importar si el microsatélite es mono, di o tetranucleotídico. Este resultado también fue corroborado por Shinde y col. (2003). También se ha observado que los microsatélites más largos mutan más que los cortos tendiendo a disminuir de tamaño y es probable que el tamaño de la serie también sea determinante en el modelo de mutación (Lai y Sun, 2003). Por otra parte, se ha demostrado que en humanos los microsatélites menores de 18 unidades de repetición, tienen un sesgo hacia la expansión mientras que los más largos tienen un sesgo a la contracción (Xu y col., 2000), aunque también se ha observado el mismo fenómeno con microsatélites con 20 unidades de repetición (Whittaker y col., 2003). Cuando lo compararon en humanos el punto focal de largo se incrementó a 21 repeticiones y en chimpancé fue de 18 (Sainudiin y col., 2004) Finalmente, una complicación complementaria es el punto de mutación, el cual puede interrumpir un microsatélite por ejemplo (AT)<sub>20</sub> se

convierte en  $(AT)_{12}GT(AT)_7$ , como la mayoría de los investigadores miden el largo de los microsatélites sin secuenciar es muy probable no detectar esta mutación (Lai y col., 2003). Las mutaciones de este tipo y los eventos de recombinación son difíciles de incorporar en estos modelos (Ellegren, 2004). La explicación de por qué los microsatélites largos tienden a disminuir de tamaño, es que el punto de mutación dentro de una secuencia, interrumpe la región repetida del microsatélite (Kruglyak y col., 1998).

Se han propuesto métodos de SMM intermedios y más complejos y los resultados de los parámetros de los modelos matemáticos como el de máxima verosimilitud (Whittaker y col., 2003), son comparados con mediciones de variabilidad (Heterocigosidad, varianza del número de repeticiones, asimetría de la distribución) que son observadas dentro de las poblaciones y más recientemente con la distribución de los microsatélites en bases de datos de genómica (Ellegren, 2004).

Ellegren y col., (1997) mostraron que aproximadamente la mitad de los microsatélites que aislaron en una especie eran monomórficos en otra y presumiblemente, perdían su capacidad de mutar. Esta observación, sugirió que con el paso del tiempo, se rompe el punto de mutación, (la nueva mutación no corresponde a la secuencia del microsatélite) y se reduce la tasa de mutación de los microsatélites (Calabrese y col., 2001). Sin embargo, tampoco estos modelos explican correctamente el desarrollo de los microsatélites. Existe consenso en que el modelo SMM es la fuerza dominante para generar nuevos alelos en los microsatélites, sin embargo, las formas matemáticas para medirlo, son muy sensibles a las violaciones de este modelo mutacional (mutaciones puntuales o restricciones al tamaño del alelo), por ello las mediciones que se hacen con el modelo IAM son más robustas y confiables (Balloux y Lugon-Moulin, 2002).

### **Extracción de ADN para microsatélites.**

La extracción de ADN a partir de diversos tejidos biológicos para la amplificación de microsatélites no presenta grandes dificultades. En general los protocolos comprenden dos fases, en la primera se pretende lisar las células y solubilizar el ADN y en la segunda eliminar por medios enzimáticos y/o químicos, las proteínas, el ARN y otras macromoléculas.

El ADN eucariótico purificado se ha obtenido clásicamente sometiendo muestras de tejidos a una digestión con proteinasa K en presencia de SDS y EDTA, varias extracciones con fenol y cloroformo y finalmente precipitación alcohólica en presencia de sales (Blin y Stafford, 1976; David y col., 1986; Maniatis y col., 1982). A partir de este protocolo inicial han surgido otros que intentan reducir el riesgo al manipulador, el tiempo empleado para obtener el ADN purificado y, por último, los costos.

En el caso de utilizar el ADN obtenido exclusivamente para amplificar secuencias microsatélite mediante la PCR, las exigencias de purificación disminuyen enormemente habiéndose diseñado estrategias realmente sencillas para preparar la muestra. Kawasaki (1990) diseñó un método que consiste en digerir una muestra de unos pocos microlitros de sangre con proteinasa K y emplear directamente el producto de la digestión en la PCR.

### **Reacción en cadena de la polimerasa.**

El método de la reacción en cadena de la polimerasa o PCR, por sus siglas en inglés (Polymerase Chain Reaction), tiene varias aplicaciones en la biología molecular. Es una reacción enzimática que permite amplificar *in vitro* fragmentos específicos de muestras de ADN y puede generar microgramos de estas fracciones. Cualquier secuencia de ácidos nucleicos puede ser clonada, analizada o modificada y aún secuencias raras de ADN pueden ser detectadas, la PCR permite la amplificación exponencial de dichos segmentos (Mullis y col., 1986; Mullis, 1987; Saiki y col., 1985). El método estándar requiere ADN molde conteniendo la región a ser amplificada y dos oligonucleótidos iniciadores (cebadores) que flanqueen la región de interés, además

de una ADN-polimerasa termoestable. Hoy en día existe en el mercado una gran oferta de polimerasas termoestables de diferentes calidades y precios, aunque una de las clásicas es la aislada de la bacteria *Thermus aquaticus*, denominada Taq polimerasa (Saiki y col., 1988). La polimerasa permanece activa a temperaturas superiores a 90 °C, necesarias para desnaturalizar el ADN. Todos los componentes necesarios para la reacción (ADN, tampón, cebadores, nucleótidos y polimerasa), se mezclan y el proceso consiste en la sucesión de tres pasos esenciales, los cuales están determinados por cambios de temperatura: desnaturalización de la cadena de ADN molde, anillamiento o hibridación de los cebadores con la cadena de ADN y elongación o extensión de la cadena de ADN. En el primer paso, la mezcla de los componentes de la reacción se incuba a temperatura alta (90-95 °C) permitiendo la desnaturalización de las cadenas de ADN molde, en el segundo paso, la reacción se enfría hasta la temperatura de hibridación, la cual normalmente está cercana a los 55 °C (entre 50 y 65 °C) y los cebadores se unen al extremo 5' de cada una de las dos cadenas separadas del ADN molde; el tercer paso, la temperatura se eleva a 72°C y los cebadores unidos a la cadena de ADN molde sirven como punto de inicio de la síntesis de las nuevas cadenas de ADN. El tiempo de incubación de cada paso oscila entre 35 y 120 segundos, esta secuencia de tres pasos corresponde a un ciclo de PCR. En el segundo ciclo, las nuevas cadenas de ADN sintetizadas, se separan y sirven como molde en los pasos de hibridación y extensión. Teóricamente,  $n$  ciclos de PCR permiten una amplificación de  $2^n$  veces de la secuencia molde de ADN. Normalmente, se hacen de 30 a 40 ciclos. Como todos los componentes necesarios para la reacción están presentes, el proceso de amplificación se puede automatizar con un termociclador automático que programe las temperaturas y el tiempo de cada paso.

### Componentes de la PCR.

Se requiere una cadena de ADN molde, los cebadores, ADN-polimerasa, desoxiribonucleótidos trifosfato (dNTPs) y una solución buffer conteniendo iones de magnesio (generalmente, MgCl<sub>2</sub>). El volumen final de la reacción oscila entre 10 y 100 µl. Las condiciones estándar para la concentración de los diferentes componentes se presentan en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Condiciones estándar para la concentración de los componentes para la amplificación por PCR

Componente	Concentración
ADN molde	10-100 ng
Solución buffer para amplificación	1/10 del volumen final
MgCl <sub>2</sub>	0.5-5mM (normalmente 1.5 mM)
DNTPs	20-200 µM de cada uno de dATP, dCTP, dGTP y dTTP
Cebador directo	0.1-0.5 µM
Cebador reverso	0.1-0.5 µM
Taq ADN polimerasa	0.5-2.5 unidades
Agua destilada estéril	Para volumen final
Volumen final	10-100 µl

### Métodos de detección de la variación genética en ADN amplificado

La electroforesis en gel es la técnica más utilizada para la detección de variantes de microsátelites. Generalmente se efectúa la electroforesis en geles de poliacrilamida que permiten una resolución de un sólo nucleótido. Para localizar las bandas de

migración del DNA en los geles clásicamente se revelan los mismos con soluciones de bromuro de etidio o mediante la impresión de placas radiográficas por la emisión de isótopos radiactivos. Puede usarse la tinción con plata (Heukeshoven y Dernick, 1985), como un método alternativo por su sencillez y seguridad. La detección de las bandas se hace también, y cada vez más, utilizando cebadores marcados con sustancias fluorescentes, emisores de rayos láser y fotodetectores de fluorescencia. La ventaja que aportan estos últimos es que las muestras se detectan en tiempo real y, mediante sofisticados programas de densitometría, a cada banda se le asigna el tamaño de forma prácticamente automática.

Para calcular el tamaño de un fragmento de DNA desconocido se utiliza un patrón o estándar formado por fragmentos marcados de diversas longitudes conocidas, evitando que se solapen dichos fragmentos con los que se están estudiando. Si esto no es posible se marca con un fluorocromo diferente o se coloca en una línea distinta. Se genera, de esta forma una curva de ajuste de tamaños mediante un análisis de regresión. Esta curva está basada en el tiempo en el que el secuenciador detecta los fragmentos del estándar en la ventana de detección. Así, cuando se someten a electroforesis fragmentos desconocidos junto al estándar se puede determinar con precisión la longitud molecular de los mismos.

Se pueden emplear diferentes fluorocromos de manera que el número de fragmentos de igual tamaño que se analicen juntos puede ser tan grande como fluorocromos se utilicen. Los resultados obtenidos se recogen en un electroferograma. Un programa informático analiza los datos recogidos por el secuenciador. La capacidad de procesamiento de muestras de este sistema multicolor es bastante mayor que en el caso de electroforesis convencional utilizando radiactividad o tinción con plata o en aquellos otros sistemas automáticos en los que sólo es posible utilizar un color.

### ***Errores en la tipificación de microsatélites***

En la década pasada el mejoramiento en las técnicas de utilización de marcadores a partir de ADN condujo a la producción y análisis de grandes bancos de datos de una amplia variedad de organismos. Desafortunadamente, el número de errores en la genotipificación, también se ha incrementado (Hoffman y Amos, 2005; Pompanon y col., 2005; Sobel y col., 2002). Un error de genotipificación ocurre cuando el genotipo de un individuo determinado después de un análisis molecular, no corresponde a genotipo real (Bonin y col., 2004), sin embargo, el verdadero genotipo es inaccesible directamente, por lo que ha de ser adjudicado por medio de análisis moleculares. Estudios recientes han demostrado que aun cuando se mantenga una tasa pequeña de error, se pueden distorsionar seriamente los resultados y la inferencia que se haga con ellos en trabajos relacionados con diversidad genética, tamaño efectivo y estructura de poblaciones, tasas de migración y relaciones de parentesco (Hoffman y Amos, 2005). A pesar de ello, muy pocos estudios reportan la tasa de error, para ilustrar el caso, Bonin y col. (2004), revisaron todos los estudios publicados en la revista *Molecular Ecology* durante el 2003 que utilizaron microsatélites y solo el 6% de 125 trabajos, mencionan la tasa de error o al menos el porcentaje de alelos no amplificados o "dropout" o amplificaciones falsas.

Los errores de genotipado pueden generarse en cada paso del proceso (muestreo, extracción de ADN, análisis molecular, calificación, análisis de los datos) y por varios factores (casualidad, causas humanas, equipo, técnica de laboratorio).

Virtualmente todos los bancos de datos para genotipificación, contienen errores, por lo que no se deben despreciar al momento de obtener las conclusiones.

Cuando la cantidad de ADN es baja y/o de baja calidad, como es normal en estudios empleando muestras de tejido no invasivo, la amplificación por PCR puede ser poco fiable (Hoffman y Amos, 2005). Un problema común es la falla estocástica de la amplificación de un alelo llevando a que los individuos heterocigotos, aparezcan como



homocigotos. Esto se ve más frecuentemente en *loci* con alelos de tamaño muy diferente, y el efecto se produce debido a que un alelo (frecuentemente el más pequeño) inicia su amplificación primero en la PCR, en detrimento del alelo más grande. Con un electroferograma, este efecto se vería como el alelo pequeño con un pico mucho más alto que el alelo más grande y si la cantidad de ADN es pequeña, el alelo más grande podría no ser visible. Este efecto se conoce como alelo no amplificado o “dropout” (Bjorklund, 2005).

Otra fuente de error son las amplificaciones inespecíficas, que pueden ser malinterpretadas como alelos verdaderos, como sucedió en un estudio hecho con heces de gorila (Bradley y Vigilant, 2002), en el que hubo respuesta cruzada de un microsatélite con bacterias *Clostridium perfringens* y *Escherichia coli*, que como es sabido, también están en el intestino de los animales domésticos. Aunque el fenómeno no es muy común, sí representa una fuente potencial de error.

A consecuencia de lo anterior, se han desarrollado numerosos protocolos para controlar la calidad de los proyectos; entre las recomendaciones más comunes están: amplificaciones múltiples de una misma muestra, comparación de resultados con muestras de sangre o tejido, reamplificación estratégica de algunos *loci*, cuantificación del ADN, estudios piloto y simulación (Hoffman y Amos, 2005). Aun cuando se espera que el ADN extraído de sangre y tejidos sea de la calidad y cantidad adecuadas, los errores de tipificación también ocurren. Los más usuales pueden ser: mutación del sitio de unión del cebador (alelos nulos), errores debidos al equipo de electroforesis, designación errónea de los alelos y errores en la captura de datos. De estos, quizá el más común es la designación errónea de los alelos, en particular se dificulta por las bandas “tartamudas” generadas por el deslizamiento de la polimerasa durante la PCR y también por la adición de nucleótidos no presentes en la cadena molde, usualmente adenina en el extremo 3' de los productos de la PCR (Johansson y col., 2003). Estos problemas son más pronunciados en los microsatélites dinucleotídicos, cuando los individuos heterocigotos pueden diferir en solo una unidad de repetición (dos nucleótidos en este caso).

Aunque las tasas de error sean pequeñas, los efectos pueden ser considerables. Una tasa de error de 1% en la designación de los alelos, genotipando 12 *loci*, conduce a tener al menos un error en el 25% de los *loci*. Peor aun, con un error del 2% la probabilidad de obtener el mismo genotipo del mismo individuo dos veces, cae abajo del 40% (Hoffman y Amos, 2005). En estudios de genética de poblaciones, los errores de genotipificación afectan tanto a las frecuencias alélicas, como a la de los genotipos. Se produce una falsa frecuencia alélica que puede generar un exceso de homocigotos o una falsa desviación del equilibrio Hardy-Weinberg, sobreestimación de la consanguinidad o una inferencia errónea sobre la estructura de las poblaciones (Bonin y col., 2004).

Afortunadamente, existen algunas técnicas para identificar los errores de genotipificación. La más obvia es la genotipificación repetida de algunos individuos, aunque implica un gasto y esfuerzo extra. Se han hecho numerosos protocolos encaminados a limitar o controlar los errores y estimar su tasa. La más económica es hacer pruebas estadísticas de los resultados obtenidos. La prueba más común es la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg que revela el exceso de homocigosis debido a los alelos nulos o los dropout, como el caso ejemplificado por Gomes y col. (1999). Sin embargo, las pruebas de equilibrio son menos efectivas cuando la diversidad alélica es alta y la muestra es pequeña (Guo y Thompson, 1992).

Paradójicamente, aunque los microsatélites se utilizan para hacer pruebas de paternidad, la forma más efectiva para detectar los errores de tipificación es la utilización de las pruebas de paternidad. Algunos alelos que no se amplifican correctamente, se ponen de manifiesto al realizar las pruebas de paternidad.

## **Análisis Estadístico**

La teoría de la genética de poblaciones para *loci* con poca diversidad alélica, como las aloenzimas, está bien caracterizada y evaluada. En contraste, los métodos apropiados para el análisis de marcadores utilizados más recientemente, está apenas refinándose (Morin y col., 2004). Particularmente, los microsatélites son muy informativos pero suelen presentar alelos nulos y sus patrones de mutación son variables, introduciendo mayor variabilidad a los análisis. Por otra parte, es difícil estandarizar el tamaño entre los alelos, más que el tamaño, lo difícil es estandarizar la denominación alélica, lo cual dificulta la comparación entre diferentes laboratorios, involucrando mayor variabilidad al análisis.

### **Tamaño de Muestra**

El tamaño de muestra óptimo es muy variable pues depende del número de *loci* y de los alelos por *loci*. Un trabajo teórico de Kalinowski (2002) sugiere que la precisión es similar al estimar el  $F_{st}$  entre un locus con 11 alelos y 10 *loci* con dos alelos, para poblaciones aisladas y en equilibrio. Sin embargo, se para obtener mayor precisión se requiere hacer un muestreo adecuado del genoma y se logra y disminuir la probabilidad de utilizar marcadores que estén sujetos a selección. Los parámetros estadísticos empleados más comúnmente en datos genotípicos son las frecuencias alélicas, Heterocigosidades y distancias genéticas. En el caso de las frecuencias alélicas, bajo el supuesto de equilibrio Hardy-Weinberg, la varianza de una frecuencia alélica se describe como una expansión binomial:

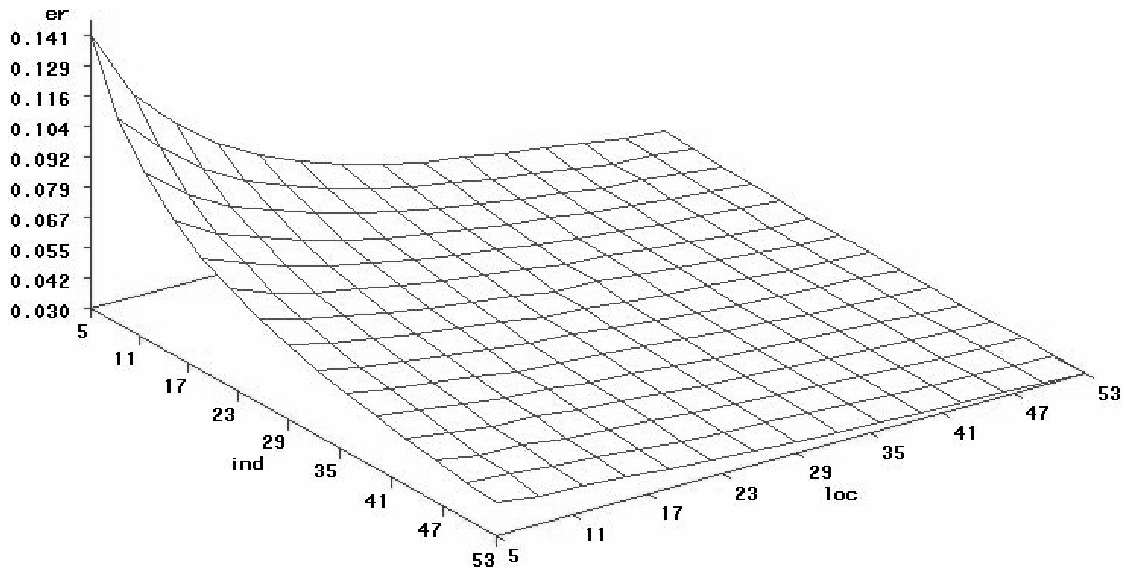
$$\sigma^2 = \frac{(x(1-x))}{2n}$$

Donde  $x$  es la frecuencia del alelo y  $n$  es el número de individuos muestreados. El error estándar es calculado como la raíz cuadrada de la varianza (Nei, 1987). El error estándar disminuye drásticamente conforme el tamaño de muestra se incrementa y después de 30, tiende asintóticamente a cero. Esto sugiere que tamaños de muestra de 30 resultan óptimos para este tipo de estudios.

Se puede medir también el efecto que tiene el tamaño de muestreo sobre el índice de diferenciación genética  $F_{st}$  de Wright (Wright, 1965). De acuerdo a Barker (1993), el error estándar del  $F_{st}$  es aproximadamente:

$$\sigma_{F_{st}} = \sqrt{\left(\frac{2}{rk}\right)\left(F_{st} + \frac{1}{n}\right)}$$

Donde  $r$  es el número de *loci* analizados,  $k$  es el número medio de alelos de cada locus y  $n$  es el número de individuos muestreados. El gráfico de superficie de respuesta que representa la relación descrita en la ecuación anterior se presenta en la Figura .



**Figura 2. Superficie de respuesta del error estándar del Fst contra el tamaño de muestra y número de loci analizados**

### **Frecuencias Génicas o Alélicas.**

Se puede definir la frecuencia alélica o génica como el cociente resultante de dividir el número de alelos iguales en una población entre el número total de alelos. En el caso de los microsatélites, el cálculo de las frecuencias se hace por recuento directo de los alelos presentes, asumiendo que la observación de un solo alelo se corresponde con la condición de homocigosis y por lo tanto que no hay alelos nulos.

### **Frecuencias Genotípicas**

La mejor manera de establecer la existencia de aislamiento, es determinando los patrones de homocigosis y Heterocigosis en la población. En las poblaciones altamente consanguíneas la frecuencia de homocigotos se incrementa y como consecuencia se reduce el número de heterocigotos, respecto a las frecuencias genotípicas esperadas en el teorema de Hardy-Weinberg (Schierup y col., 2000). Desde el punto de vista estadístico, Wright propuso  $F$  como un coeficiente de consanguinidad en 1922. El coeficiente  $F$  puede ser conceptualizado, como la diferencia entre las frecuencias de heterocigotos esperados y observados ( $H$ ), bajo la teoría de Hardy-Weinberg (HWT), ponderada esta diferencia por los heterocigotos observados ( $F = [H_{(HWT)} - H_{(observada)}] / H_{(HWT)}$ ) (Wright, 1965). En esta ecuación se puede observar que si una población muestra altos niveles de consanguinidad y se incrementa el número de homocigotos, el valor de  $F$  tendrá un valor positivo, mientras que si la población tiene apareamientos con individuos de otras subpoblaciones, tendrá un valor negativo de  $F$ ; en cualquier caso, si el valor es positivo o negativo, tendrá que establecerse su diferencia significativa de cero.

### **Heterocigosis**

Es la frecuencia media de individuos heterocigotos por locus o, frecuencia media de loci heterocigóticos por individuo, se estima calculando la frecuencia de heterocigóticos para cada locus y dividiendo por el total de loci.

Un locus se define como polimórfico si la frecuencia del alelo más común es igual o menor a 0.99. Esta definición es claramente arbitraria y no hay razón de que pudiera ser de 0.95 0.995, o algún otro valor (Nei, 1975).

Los términos Heterocigosidad y diversidad genética suelen usarse indiscriminadamente en la bibliografía. Generalmente se usa el término Heterocigosidad para referirse a Heterocigosidad observada ( $H$ ), y el de diversidad genética para referirse a la Heterocigosidad esperada ( $H_e$ ).

### Heterocigosidad observada

Es la proporción de individuos heterocigotos observada en una muestra de la población. Si se calcula directamente a partir de los genotipos encontrados en la población para todos los *loci* se trataría de la Heterocigosidad media observada ( $\bar{H}$ ). El error estándar es la raíz cuadrada de la varianza, que viene dada por la expresión:

$$\sigma_{\bar{H}}^2 = \frac{\bar{H}(1-\bar{H})}{nr}$$

Donde n: número de individuos (tamaño de la muestra) y r: número de *loci* estudiados. Como puede verse en esta expresión, la exactitud del cálculo de la Heterocigosidad media depende igualmente del tamaño de la muestra y del número de *loci* estudiados (Nei, 1975).

### Diversidad genética o Heterocigosidad esperada

La Heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) o diversidad genética de un locus se calcula (Nei, 1975):

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^k x_i^2$$

xi: frecuencia del alelo i y k: número de alelos

Este estadístico es equivalente a la Heterocigosidad observada sólo en el caso de poblaciones en completo equilibrio.

La Heterocigosidad esperada corregida o insesgada se calcula para cada combinación locus/población mediante la siguiente ecuación (Nei y Roychoudhury, 1974):

$$H_e = \frac{2n \left( 1 - \sum_{i=1}^k x_i^2 \right)}{(2n - 1)}$$

La varianza intralocus de la muestra para cada marcador se calcula mediante la siguiente ecuación (Nei y Roychoudhury, 1974):

$$\sigma_{H_{ej}}^2 = \frac{2 \left\{ (2n - 2) \left[ \sum x_i^3 - (\sum x_i^2)^2 \right] + \sum x_i^2 - (\sum x_i^2)^2 \right\}}{2n(2n - 1)}$$

La varianza interlocus sería por lo tanto:

$$\sigma_{\bar{H}_e}^2 = \frac{1}{r} \sum_{j=1}^r \sigma_{H_{ej}}^2$$

El error estándar de la diversidad genética se calcula como la raíz cuadrada de la varianza.

Nei y col. demostraron que el error estándar de la diversidad genética es menor cuando aumenta el número de *loci* empleados y que el tamaño de la muestra es menos crítico. La varianza interlocus es siempre mucho mayor que la varianza media intralocus (Nei y Roychoudhury, 1974).

### Contenido de Información Polimórfica (PIC)

El contenido de información polimórfica (PIC) es un parámetro introducido por Botstein y col. en (1980), como un indicador de la calidad de un marcador en estudios de cartografía génica. En los últimos años se ha popularizado su cálculo a fin de obtener una valoración de la calidad de un marcador para estudios genéticos (de segregación, de identificación y control de paternidad, de población) pues refleja el polimorfismo detectado. No obstante, dada su dependencia del número de alelos y de sus frecuencias, la información que aporta no es suficiente para basar en ella la elección de un marcador u otro (Moazami-Goudarzi y col., 1994).

Se calcula mediante la fórmula:

$$PIC = 1 - \left( \sum_{i=1}^k x_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2x_i^2 x_j^2$$

Donde  $x_i$  es la frecuencia del  $i$ -ésimo alelo y  $k$  es el número de alelos.

El PIC es siempre menor que  $H$ . Se desarrolló para medir la utilidad de los marcadores genéticos codominantes, para averiguar la procedencia de un alelo determinado. Representa la probabilidad de un marcador de ser informativo en un análisis de segregación familiar. Marcadores con  $PIC > 0.7$  generalmente son considerados como marcadores altamente informativos (Hearne y col., 1992).

### Equilibrio Hardy-Weinberg

La investigación desarrollada con grupos sanguíneos, isoenzimas o polimorfismos de ADN compara las frecuencias alélicas observadas con las frecuencias esperadas suponiendo un equilibrio bajo el modelo de Hardy Weinberg. Este modelo establece que en una población de tamaño infinito las frecuencias génicas y genotípicas permanecen constantes de generación en generación si los apareamientos son aleatorios, en ausencia de fuerzas que las modifiquen (mutación, migración, selección y deriva génica). En genética de poblaciones, debido a su importancia se debe poner mucha atención, puesto que frecuentemente sirve como base de la inferencia estadística (Guo y Thompson, 1992). Aunque la base para medir el equilibrio sigue siendo la prueba de  $X^2$ , se han desarrollado algunos algoritmos que tratan de ser más precisos cuando se utilizan genotipos multilocus muy grandes (Wellek, 2004).

El control de calidad proporcionado al probar el equilibrio Hardy Weinberg, debe ser esencial para cualquier análisis de datos a partir de ADN (Gomes y col., 1999). Ningún trabajo de genética de poblaciones, debería publicarse sin una evidencia aceptable del ajuste de las frecuencias al modelo de Hardy Weinberg.

### Desviaciones del Equilibrio Hardy-Weinberg

Las desviaciones del HWE pueden producirse debido a varios factores como son:

- Apareamientos asociativos
- Existen subdivisiones dentro de la población (Principio de Wahlund)
- Consanguinidad
- Selección natural
- Migración
- Diferencias sexo-específicas en las frecuencias alélicas
- Técnica de muestreo incorrecta
- Presencia de alelos nulos
- Errores de tipificación

En el caso de los microsatélites, que poseen gran número de alelos, el número de genotipos es tan elevado que algunas frecuencias genotípicas son cero, sobre todo cuando las frecuencias alélicas son muy bajas. Este fenómeno es una de las limitaciones de la prueba  $X^2$  para probar el equilibrio.

Una población diploide se considera que está en equilibrio Hardy-Weinberg (HWE) para un locus genético polimórfico si la proporción de genotipos observados en la población puede ser completamente definida por las frecuencias alélicas del locus en cuestión. En otras palabras, los alelos del locus están distribuidos al azar en la población y no existe asociación entre el par de alelos que un hijo recibe de sus padres.

En un estudio sobre variación genética debe determinarse si hay desviaciones significativas del HWE en los *loci* estudiados. Si la proporción de genotipos para un locus no está en HWE en algunas poblaciones, puede sospecharse que ha habido una selección que afecte a dicho locus o la existencia de alelos nulos. Al contrario, si una población se desvía significativamente del HWE para un número independiente de *loci* puede deberse a que dentro de la población existen subdivisiones, a que existe migración o flujo de genes desde una fuente externa o se están produciendo apareamientos dirigidos (no aleatorios) (Bjorklund, 2005).

La diferencia entre la Heterocigosidad observada y la Heterocigosidad esperada calculada a partir de las frecuencias alélicas bajo la asunción de equilibrio Hardy-Weinberg (HWE) puede usarse como un método muy básico para detectar perturbaciones en la estructura de una población. No obstante, un método mucho más exacto es comparar la distribución de genotipos observados con la distribución esperada si la población estuviera en HWE. Cualquier desviación significativa indicará que la población está subdividida, que existe una consanguinidad significativa o que existe un flujo de genes de otra población. Estas circunstancias pueden ser estudiadas usando tests exactos o procedimientos de proporción de verosimilitud. Estos análisis se requieren debido al gran número de alelos de los *loci* microsatélite y por tanto el elevado número de posibles genotipos. Con este fin pueden usarse aplicaciones informáticas que realizan la enorme cantidad de cálculos que las probabilidades exactas requieren.

### **Pruebas para calcular la desviación del equilibrio Hardy-Weinberg**

Existen tres métodos para hacer un cálculo no sesgado de la probabilidad de HWE.

#### **Prueba de $\chi^2$**

Se usa el estadístico  $\chi^2$  para detectar la discordancia de las frecuencias genotípicas para cada combinación locus/población. Se construye una tabla de contingencia de genotipos y se hace un cálculo de  $\chi^2$  con los datos de los genotipos observados frente a los esperados. Con este procedimiento se obtienen resultados aceptables cuando el tamaño de la muestra es grande y el número de alelos de cada locus es pequeño. Cuando el tamaño de la muestra es pequeño y el número de alelos grande los valores de  $\chi^2$  no son muy fiables. Una regla a seguir sería que cada elemento de la tabla de contingencia tenga al menos 5 observaciones para que el valor  $\chi^2$  sea fiable (Gomes y col., 1999).

Estos inconvenientes se pueden evitar usando programas informáticos que generen una distribución sintética de la población a partir de los genotipos observados. Se usan métodos como el Monte Carlo que unen alelos aleatoriamente en genotipos, realizando esta operación muchas veces (por ejemplo, 1.000 veces) se producen una serie de nuevas poblaciones que son testadas para el HWE haciendo un cálculo de  $\chi^2$ . La proporción de veces que estos  $\chi^2$  exceden el valor observado verifica la probabilidad de equivocarse al rechazar la hipótesis nula (no desviación del HWE). Como alternativa se pueden usar algoritmos en cadena de Markov para un cálculo no sesgado de la probabilidad exacta (Raymond y Rousset, 1995). A pesar del uso de estos potentes programas informáticos, desviaciones sutiles del HWE pueden no ser detectadas a menos que se usen tamaños de muestra razonables.

### Test exacto o de probabilidad de Fisher

Consiste en observar todos los posibles lotes de frecuencias genotípicas para un determinado lote de frecuencias alélicas y rechazar la hipótesis de HWE si las frecuencias genotípicas resultan ser inusuales. Si hay más de cuatro alelos para un locus, se realiza un cálculo no sesgado de la probabilidad de HWE usando el método en cadena de Monte Carlo-Markov con miles de iteraciones (Guo y Thompson, 1992).

### Estadísticos F.

El exceso o déficit de heterocigotos podría ser entre individuos de la misma subpoblación (Fis), del individuo con el total de la población (Fit) o de la subpoblación al total de la población (Fst). En otras palabras, esos estadísticos miden el grado de relación de varios pares de genes.

Weir y Cockerhan (1984) describen tres parámetros básicos cuando se muestrean individuos diploides de una serie de poblaciones: coeficiente de consanguinidad total F o (Fit) de Wright, como la correlación de genes dentro de un individuo, sin considerar la existencia de subpoblaciones; la co-ancestría  $\theta$  o Fst de Wright, como la correlación de genes de un individuo viniendo de diferentes subpoblaciones; y  $f$  o Fis de Wright, como la correlación de genes dentro de individuos dentro de la subpoblación. Cuando una población establece un patrón de subdivisión por algún tipo de aislamiento genético, se denomina microdiferenciación. Este proceso puede ser evaluado paramétricamente utilizando el Fst de Wright o la  $\theta$  de Cockerham y Weir (1986). En este caso el Fst siempre será positivo y significativamente mayor a cero (Nei, 1973). En algunas ocasiones, se comparan diferentes poblaciones por medio de un conteo de genes o de sus frecuencias; pero cuando no se puede inferir que estén en equilibrio Hardy-Weinberg, se requiere hacer la comparación de los genotipos. Una población consanguínea, cambia su estructura genotípica a través del tiempo, pero la estructura alélica permanece constante (Arcos-Burgos y Muenke, 2002). Esta es una particularidad importante para detectar las fuerzas de la evolución que actúan sobre el Equilibrio Hardy-Weinberg en una población; la deriva génica, la mutación y la selección producen cambios, tanto en las estructuras alélicas, como genotípicas.

### Cálculo de índices de fijación (estadísticos F)

Wright propone medir las desviaciones de frecuencias genotípicas en poblaciones subdivididas por medio de tres parámetros: Fis, Fit y Fst. Los tres parámetros están relacionados mediante la siguiente ecuación:

$$F_{ST} = 1 - \frac{(1 - F_{IT})}{(1 - F_{IS})}$$

También se definen como: Fit, índice de fijación de los individuos respecto al total de la población, o desviación de las frecuencias genotípicas observadas en la población total respecto a las esperadas considerando que existe equilibrio Hardy-Weinberg. Fis, índice de fijación de los individuos respecto a las subpoblaciones o desviación de las frecuencias genotípicas observadas en las subpoblaciones respecto a las esperadas considerando el equilibrio Hardy-Weinberg. Fst indica del grado de diferenciación genética entre las subpoblaciones.

El cálculo de los estadísticos-F para comparar poblaciones es muy común y frecuente. Para un conjunto de  $t$  poblaciones con frecuencias alélicas para cada alelo  $x_i$  ( $i= 1, 2, 3, \dots, k$ ), el estadístico Fst puede definirse como:

$$F_{ST} = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2 / (t-1)}{\bar{x}(1 - \bar{x})} = \frac{\sigma^2}{\bar{x}(1 - \bar{x})}$$

Donde  $\bar{x} = \sum_i x_i / t$  es la frecuencia media en la muestra de todos los alelos y todas las muestras, y  $\sigma^2$  es la varianza de la muestra. En el caso de que las muestras tengan tamaños diferentes ni hay que tener en cuenta las medias y varianzas con lo cual la ecuación quedaría:

$$F_{ST} = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2 / (t-1)\bar{n}}{\bar{x}(1-\bar{x})}$$

$$\bar{x} = \frac{\sum_i n_i x_i}{\sum_i n_i}$$

$$\bar{n} = \frac{\sum_i n_i}{t}$$

Este valor aumenta cuando las frecuencias alélicas divergen, pero es difícil cuantificar la significación de la divergencia (Weir, 1996).

Nei redefinió los índices de fijación y mostró que los tres estadísticos F pueden calcularse usando la Heterocigosidad observada y esperada y que pueden ser índices de diversidad genética (Nei, 1977).

$$F_{IS} = 1 - \frac{\bar{H}}{\bar{H}e_s}, \quad F_{IT} = 1 - \frac{\bar{H}}{\bar{H}e_T}, \quad F_{ST} = 1 - \frac{\bar{H}e_s}{\bar{H}e_T}$$

Donde  $\bar{H}$  es la frecuencia observada de heterocigotos,  $\bar{H}e_s$  y  $\bar{H}e_T$  son la Heterocigosidad esperada en equilibrio Hardy-Weinberg o la medida de la diversidad genética en las subpoblaciones y población total, respectivamente.

Con los estadísticos-F se puede conocer la estructura poblacional tanto en situaciones en las que existan selección como en las que no la haya, ya que los términos se encuentran definidos por las frecuencias alélicas y genotípicas de la población en un momento concreto (Nei, 1977).

Existen unos estadísticos análogos que establecen el grado de parentesco de varios pares de alelos (Cockerham, 1973, 1969). En el supuesto de individuos diploides muestreados de una serie de poblaciones, se definen tres parámetros: F que representa la correlación de alelos dentro de los individuos de todas las poblaciones, se corresponde con el Fit de Wright y sería el coeficiente de consanguinidad o endogamia;  $\theta$ , que es equivalente al Fst de Wright, sería la correlación de alelos de diferentes individuos en la misma población o coeficiente de parentesco, y f que es la correlación de los alelos dentro de individuos y dentro de las poblaciones y se corresponde con Fis. Estos tres parámetros se relacionan entre sí mediante la expresión:

$$f = \frac{(F-\theta)}{(1-\theta)}$$

El cálculo se realiza mediante un análisis de componentes de la varianza, existiendo tres fuentes de variación: poblaciones, individuos dentro de poblaciones y alelos dentro de los individuos. El análisis de componentes de la varianza para datos de genotipo en poblaciones genéticas se construye con las frecuencias alélicas y genotípicas (Weir, 1996).

Estrictamente hablando, la medida Fst estándar no puede considerarse como una medida de distancia genética ya que Fst se define para varias poblaciones y la distancia genética se definiría para un par de poblaciones. Nei propone una versión modificada de Fst que puede ser usada como medida de distancia genética cuando se consideran sólo dos poblaciones (Nei, 1987).



Para dos poblaciones,  $F_{ST}$  se define como  $F_{STi}$ :

$$F_{STi} = \frac{(x_i - y_i)^2}{2z_i(1 - z_i)}$$

Donde  $x_i$ ,  $y_i$ : son las frecuencias de un alelo dado de un locus en dos poblaciones

$z_i$ : media de  $x_i$  y  $y_i$

$F_{STi}$  puede ser calculado para cada alelo, hacer la media para cada locus y después para todos los *loci*.

El error estándar de  $F_{STi}$  (Barker y col., 1993) es:

$$\sigma_{F_{STi}} = \sqrt{\left(\frac{2}{rk}\right)\left(F_{STi} + \frac{1}{n}\right)}$$

Donde  $r$ , es el número de *loci* estudiados;  $k$ : es la media del número de alelos en cada locus y  $n$ : es el número de individuos estudiados.

Observando la ecuación puede verse que el error estándar está más influenciado por el número de *loci* empleados que por el tamaño de la muestra. Además, cuando el tamaño de la muestra es de 20 individuos o más, su efecto sobre el error estándar es irrelevante.

### **Análisis Molecular de Varianza (AMOVA)**

Cuando una población está dividida en dos subpoblaciones, hay menos Heterocigosidad que si la población no estuviera subdividida; esto se cuantifica utilizando los estadísticos  $F$  de Wright.

Este análisis permite la partición de la varianza genética en cada locus o varios *loci*, en la variación dentro de poblaciones y en la variación entre poblaciones (Adeyemo y col., 2005). El usuario debe definir la particular estructura que quiere probar. Los componentes de covarianza ( $\sigma^2$ 's) se utilizan para computar los índices de fijación en términos de consanguinidad (Wright, 1965), o más tarde en términos de tiempo de coalescencia definidos por (Slatkin, 1991; Slatkin y Voelm, 1991).

Además, se puede utilizar para hacer análisis jerárquicos de tres niveles de componentes de varianza genética, a) entre individuos dentro de grupo ( $F_{SG}$ ), entre poblaciones dentro de grupo, y c) entre grupos.

La significancia de los índices de fijación es probada usando un método de permutación no paramétrico (Excoffier y col., 1992), que consiste en la permutación de haplotipos, individuos, poblaciones o grupos de poblaciones. Después de cada ronda de permutación, se recalcula el estadístico. Se requieren 1000 o más permutaciones para obtener precisión en el nivel de probabilidad.

Incluyendo el componente de covarianza dentro de individuo, es posible calcular los índices de fijación ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  y  $F_{ST}$ ).

La varianza molecular total ( $\sigma^2$ ) es la suma de las diferencias entre genotipos dentro de población ( $\sigma^2c$ ), el componente de covarianza entre genotipos en diferentes poblaciones dentro de grupo ( $\sigma^2b$ ) y el componente de covarianza debido a diferencias entre poblaciones ( $\sigma^2a$ ). La misma estructura podría extenderse a niveles jerárquicos adicionales, de acuerdo a las necesidades.

El AMOVA se puede usar para: describir la partición de la varianza entre y dentro de grupos y probar la significancia de los grupos de poblaciones escogidos. Si las poblaciones se agrupan con base a un conocimiento o análisis previo, lo que se busca es simplemente una descripción estadística de la partición de la varianza total en los componentes de varianza; o un análisis jerárquico de partición de la varianza en componentes de varianza debidos a diferencias dentro y entre poblaciones.

Los componentes de varianza calculados pueden ser: entre individuos dentro de grupo, entre poblaciones dentro de grupos y entre grupos.

La significancia de los componentes de covarianza asociados con posibles diferentes niveles de estructura genética se prueba usando procedimientos no paramétricos de permutaciones (Excoffier y col., 1992). El tipo de permutaciones es diferente para cada componente y estructura del AMOVA. Para el caso de datos genotípicos, varios grupos de poblaciones y con fase gamética desconocida los estadísticos F se calculan a partir de los componentes de varianza como sigue:

$$F_{CT} = \sigma_a^2 / \sigma_T^2 \quad \text{la permutación de todas las poblaciones dentro de grupos.}$$

$$F_{ST} = \sigma_a^2 + \sigma_b^2 / \sigma_T^2 \quad \text{se prueba por la permutación de los genotipos entre poblaciones y entre grupos.}$$

$$F_{SC} = \sigma_b^2 / \sigma_T^2 \quad \text{se prueba por la permutación de los genotipos entre poblaciones y dentro de grupos.}$$

El AMOVA para el caso de datos genotípicos con varios grupos de poblaciones, en forma general se muestra en la Tabla 2:

**Tabla 2. AMOVA para datos genotípicos con varios grupos de poblaciones**

Fuente de Variación	g.l.	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio esperado
Entre grupos	G-1	DSS (entre grupos)	$n'' \sigma_a^2 + n' \sigma_b^2 + \sigma_c^2$
Entre poblaciones dentro de grupos	p-G	DSS (entre poblaciones/dentro de grupo)	$N \sigma_b^2 + \sigma_c^2$
Dentro de Poblaciones	2N-p	DSS(dentro de poblaciones)	$\sigma_c^2$
Total	2N-1	DSS(Total)	$\sigma_T^2$

DSS=Desviación de suma de cuadrados

Donde G es el número de grupos en la estructura, P, número total de poblaciones; N, número total de individuos; N<sub>p</sub>, número de individuos en la población p; N<sub>g</sub>, número de individuos en el grupo g. Las n's y los estadísticos F se definen como;

$$S_G = \sum_{g \in G} \sum_{p \in g} \frac{2N_p^2}{N_g},$$

$$n = \frac{2N - S_G}{P - G},$$

$$n' = \frac{S_G - \sum_{p \in P} \frac{2N_p^2}{N}}{G - 1},$$

$$n'' = \frac{2N - \sum_{g \in G} \frac{2N_g^2}{N}}{G - 1},$$

$$F_{CT} = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_T^2},$$

$$F_{ST} = \frac{\sigma_a^2 + \sigma_b^2}{\sigma_T^2}, \text{ y}$$

$$F_{SC} = \frac{\sigma_b^2}{\sigma_b^2 + \sigma_c^2}$$

### Prueba de Hipótesis

Se puede comparar la estructura genética comparando los resultados de varios agrupamientos y escoger la estructura que maximice la varianza entre grupos. Esta técnica está en contraste al método utilizado por Pritchard y col. (2000) donde los grupos son asignados *a priori*.

### Distancias genéticas entre poblaciones.

Las distancias genéticas ayudan a entender las relaciones evolutivas entre poblaciones. La teoría matemática base de los programas, incluye aspectos gráficos, combinatorios, cadenas de Markov junto con estadísticos (de máxima verosimilitud y remuestreo), investigación de operaciones (optimización, investigación heurística) y ciencias de la computación. Afortunadamente, los conceptos son simples aún cuando el proceso matemático es complejo.

Los resultados se presentan como una matriz de valores entre cada población. Hasta ahora, la información contenida ha sido ADN, ARN y secuencias proteicas, aunque actualmente, se incorporan otros aspectos como orden de los genes, SINE's (pequeños elementos nucleares inespecíficos).

Los modelos para estudiar divergencia entre dos poblaciones que descienden de una población ancestral común se diseñaron originalmente para especies, y asumen una evolución independiente de cada población. Después de la especiación (el momento en que dos poblaciones se convierten en dos especies distintas), por definición, no existe migración entre poblaciones, por lo que la migración se ignora en los modelos utilizados. Cuando se utilizan microsatélites, que son neutros, se asume que la selección tampoco afecta a los cambios en las frecuencias alélicas de estos marcadores. Por lo tanto, la diversidad genética observada viene determinada por dos parámetros: deriva genética y, para periodos de tiempo largos, mutación. El modelo clásico de deriva genética y mutación se diseñó en principio para el estudio de relaciones entre especies, por lo que el periodo de tiempo que se estudia es largo por definición (miles de generaciones). Cuando se estudian razas, se estudian periodos de tiempo más cortos (cientos de años), por lo que el efecto de la mutación se puede ignorar.

Las distancias genéticas pueden dividirse en dos grupos:

a) Basadas en la distribución de frecuencias:

Gregorius (1974), Gower (1966), Goodman (1973), Rogers (1972), Nei (1973; 1972; 1975), Morton (1973), Latter (1973), Reynolds (1983), Sanghvi (1968), Cavalli-Sforza y Edwards (1967)

b) Basadas en la distribución del tamaño de los alelos:

Goldstein (1995a), Shriver (1993) y Slatkin (1995).

Actualmente hay una gran variedad de procedimientos para estimar la distancia genética entre poblaciones. El cálculo de la distancia genética entre dos poblaciones da una estimación relativa del tiempo que ha pasado desde que las poblaciones han existido. Estimaciones pequeñas de la distancia entre dos poblaciones pueden indicar subestructura de las poblaciones y que existe flujo genético entre las poblaciones, o también pueden indicar un completo aislamiento pero que se han separado por un corto periodo de tiempo. Cuando dos poblaciones están aisladas genéticamente, los procesos de mutación y deriva llevan a la diferenciación en las frecuencias alélicas;

conforme se incrementa el tiempo de separación, las frecuencias alélicas también se diferencian (Felsenstein, 2004).

La neutralidad de cada locus debe ser analizada. Selección, mutación y deriva pueden conducir a la divergencia de las frecuencias alélicas, mientras que la migración conducirá a la homogenización de las frecuencias alélicas.

Las desviaciones de las frecuencias alélicas se pueden deber a varias causas. Si hay un exceso de heterocigotos puede indicar la presencia de selección por sobredominancia o la ocurrencia de cruzamientos entre poblaciones. Por otra parte, un exceso de homocigotos puede ser por: locus bajo selección, alelos nulos, consanguinidad en la población la presencia de subestructura de la población o efecto Wahlund (apareamiento más probable en individuos relacionados).

Uno de los modelos más simples de estimación de la distancia genética se basa en la proporción de alelos compartidos (Chakraborty y Jin, 1993a). Esta puede ser calculada entre individuos o entre poblaciones

$$PSA = \frac{\sum S}{2u}$$

Donde el número de alelos compartidos  $S$  se suma en todos los *loci* ( $u$ ). La distancia entre individuos se estima como:

$$DSA_i = 1 - PSA_i$$

Esta medición individual puede utilizarse para detectar subestructura en la población usando esta técnica se detectó una correlación entre la distancia genética y la localización geográfica (Bowcock y col., 1994).

Un segundo método para calcular distancias genéticas fue el desarrollado por Cavalli-Sforza y Edwards (1967). Este método implica la transformación de los datos dentro de una distancia angular  $\theta$ . En este caso las poblaciones se conceptualizan como puntos existentes en un espacio  $m$ -dimensional euclidiano el cual es especificado por las  $m$  frecuencias alélicas ( $m$  es igual al numero de alelos en ambas poblaciones). La distancia  $\theta$  es un ángulo entre esos puntos:

$$\cos(\theta) = \sum_i \sqrt{x_i y_i}$$

Donde  $x_i$  y  $y_i$  son las frecuencias del  $i$ -ésimo alelo en la población  $x$  y  $y$  respectivamente. De aquí se calcula la distancia entre los dos puntos medidos en una línea recta y se calcula como:

$$D_{CH} = \left(\frac{2\sqrt{2}}{\pi}\right) \sqrt{1 - \cos \theta}$$

Está medida en unidades de sustitución de genes donde el valor 1 indica la completa fijación de alelos en cada población. La distancia combinada de todos los *loci* combinados es la suma de la distancia al cuadrado de cada locus.

La distancia mas comúnmente utilizada según Baumung (2004) es la estándar ( $D_S$ ) desarrollada por Nei (1972). Esta se calcula a partir de:

$$D_S = -\ln I$$

Donde  $I$  es una medida de identidad genética. La identidad genética se estima como:

$$I = \frac{j_{xy}}{\sqrt{j_x j_y}}$$

Donde  $J_{xy}$ ,  $j_x$  y  $j_y$  son las medias de todos los *loci* de  $\sum x_i y_i$ ,  $\sum x_i^2$  y  $\sum y_i^2$  para cada locus.

Distancia de Nei et al (1983) ( $D_A$ )

$$D_A = 1 - \frac{1}{r} \sum_j^r \sum_i^{m_j} \sqrt{x_{ij} y_{ij}}$$

Distancia genética mínima de Nei ( $D_m$ ) (1973).

$$D_m = \frac{(j_x + j_y)}{2} - j_{xy}$$

Distancia ponderada de Reynolds (1983). Utiliza el promedio del coeficiente de coancestría ( $\theta$ ).

$$\bar{\theta}_w = \frac{(\sum_{l=1}^m a_l)}{\sum_{l=1}^m (a_l + b_l)}$$

Distancia genética de Goldstein (1995b). Esta distancia se basa en el modelo de mutación por pasos (SMM), sin embargo, existen evidencias que indican que este modelo de mutación no es suficiente para explicar la mutación de los microsatélites (Di Rienzo y col., 1994).

$$(\delta\mu)^2 = \frac{\sum_j^r (\mu x_j - \mu y_j)^2}{r}$$

Donde  $\mu x_j$  y  $\mu y_j$  son el promedio de los estados alélicos en el j-ésimo locus y  $x_{ij}$  y  $y_{ij}$  son las frecuencias de los alelos en estado  $i$  en el j-ésimo locus en las poblaciones X y Y respectivamente.

Bajo las mismas condiciones de tamaño de población se pueden encontrar algunas diferencias; sin embargo, el número de *loci* es importante para evitar sesgos pero cuando el número de alelos por locus es superior a cuatro, se incrementa la precisión de las distancias.

### **$F_{ST}$ como distancia genética**

El estadístico  $F_{ST}$  (Wright, 1969), la consanguinidad dentro de una subpoblación respecto a la población total, es una medida de diversidad genética muy utilizada en producción animal. Aquí las razas son consideradas subpoblaciones de una gran población que comprende todas las razas estudiadas.  $F_{ST}$  se puede expresar en términos de Heterocigosidad (Nagylaki, 1998):

$$F_{ST} = 1 - H = 1 - \sum_{i \neq j} x_i x_j$$

Donde  $x_i$  es la frecuencia del alelo  $x$  de un *locus*  $i$  en la población estudiada.

Si subpoblaciones finitas están aisladas unas de otras, cada una de ellas puede sufrir consanguinidad, con fijación de alelos. Los alelos fijados pueden ser diferentes en cada población. Si la consanguinidad continúa, aumenta la diversidad entre razas.

Nagylaki dice que  $F_{ST}$  es una medida adecuada de divergencia entre poblaciones si la diversidad genética es baja en un principio (Nagylaki, 1998). Excepto para poblaciones completamente consanguíneas,  $F_{ST}$  siempre es menor de 1, incluso para poblaciones

completamente diferenciadas. Si tenemos K poblaciones fijadas para un locus con  $L (< K)$  alelos, la Heterocigosidad media dentro de las poblaciones será 0,  $F_{ST}=1$ .  $F_{ST}$  indicará una diferenciación total entre líneas. En estos casos  $F_{ST}$  no sirve como medida de diversidad genética.

Las distancias genéticas clásicas no tienen en cuenta la migración, pero  $F_{ST}$  se puede usar para el cálculo de tasa de migración entre poblaciones (Slatkin, 1991; Wilkinson-Herbots y Ettridge, 2004). Un aumento en la tasa de migración produce un descenso en el  $F_{ST}$ . La migración y la mutación mantienen la diversidad genética dentro de las poblaciones naturales. Entre poblaciones, la migración permite un intercambio de genes (flujo de genes), que tiende a homogeneizar la constitución genética de un grupo de poblaciones y como consecuencia un descenso en la diversidad genética entre poblaciones.

### Árboles Filogenéticos.

Los análisis Filogenéticos o árboles evolutivos son las estructuras básicas necesarias para identificar las diferencias entre poblaciones y poder analizarlas desde el punto de vista estadístico. El número de posibles topologías rápidamente se incrementa conforme aumenta el número de poblaciones ( $m$ ). En el caso de árboles con raíz:

$$\text{Número de topologías} = \frac{[(2m-3)!]}{[2^{m-2}(m-2)!]}$$

Esto indica que el número de topologías para  $m= 2, 3, 4, 5$  y  $6$  son  $1, 3, 15, 105$  y  $945$ , respectivamente (Nei y Kumar, 2000). Para el caso de árboles sin raíz, se sustituye  $m$  por  $m-1$ . Sin embargo, es extremadamente difícil encontrar la topología verdadera cuando  $m$  es grande.

Uno de los más populares es el UPGMA, asume que las tasas de evolución son constantes entre las poblaciones en estudio, así que existe una relación lineal entre la distancia evolutiva y el tiempo de divergencia. Sin embargo, este tipo de árboles son perturbados más fácilmente por errores estocásticos que los árboles construidos con otros métodos (Nei y Kumar, 2000).

Existen algunos métodos estadísticos usados para la reconstrucción de los árboles filogenéticos de datos moleculares. Los más comúnmente usados son: Métodos de distancia, Métodos de máxima parsimonia y Métodos de verosimilitud. Por otra parte, aunque se utilicen diferentes tipos de marcadores de ADN la variación obtenida da resultados similares en la relación de esas poblaciones. La presencia de migración o selección afecta la interpretación de los árboles (Cavalli-Sforza y Feldman, 2003)

En los métodos basados en matrices de distancia, el árbol se construye usando un algoritmo basado en algunas relaciones funcionales entre los valores de distancia. Los métodos parsimoniosos, buscan el árbol que requiera el número más pequeño de cambios evolutivos, para explicar las diferencias observadas entre los OTUs en estudio y se denominan árboles de máxima parsimonia. Los métodos de máxima verosimilitud son los más complicados, algunos se basan en las frecuencias génicas (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967) o en la secuencia de aminoácidos o de nucleótidos (Felsenstein, 2004). Los métodos de máxima verosimilitud permiten evaluar cual modelo proporciona el mejor ajuste a los datos. Las pruebas estadísticas, también permiten evaluar el grado de confianza de la topología propuesta.

En la reconstrucción de árboles filogenéticos hay dos procesos de inferencia: la topología y el largo de las ramas para una topología dada. Cuando la topología se conoce, la estimación del largo de las ramas es relativamente simple y existen varios métodos para hacerlo (mínimos cuadrados y máxima verosimilitud). El problema es la reconstrucción de la topología por la gran cantidad de opciones; por ello, algunos autores han considerado la topología de un árbol como un parámetro estadístico

(Felsenstein, 2004). Una de las propiedades estadísticas más importantes es la consistencia. Un estimador es consistente si conforme aumenta la cantidad de datos (aproximándose al infinito), el valor estimado se aproxima al valor verdadero del parámetro con una probabilidad de 1. En (1978) Felsenstein argumentó que los árboles filogenéticos bajo algunas circunstancias son inconsistentes en la estimación de la topología y que el error está directamente relacionado con el número de caracteres considerados, es decir que bajo determinadas circunstancias, conforme aumenta el número de caracteres el árbol propuesto tiende a ser erróneo cuando el método se basa en la máxima parsimonia (Felsenstein, 2004).

### **Métodos basados en una matriz de distancia.**

Las distancias genéticas son computadas para todos los pares de poblaciones y se construye un árbol filogenético considerando los valores de esas distancias (Nei y Kumar, 2000). Los principales son:

Método UPGMA (Unweighted pair-group method using arithmetic averages).

Es el método más simple en esta categoría, a veces se denomina fenograma porque originalmente se usó para representar el grado de similitud fenotípica en un grupo de especies. Sin embargo puede utilizarse para reconstruir filogenias a partir de datos moleculares, particularmente cuando se utilizan datos de frecuencias génicas, este modelo produce árboles razonablemente buenos aunque produce más errores cuando el número de genes es pequeño (Takezaki y Nei, 1996).

### **Método de mínima evolución**

En este método la suma del largo de todas las ramas (**S**) es computada para todas las posibles topologías y la que tiene el valor más pequeño se escoge como el mejor árbol. La idea de mínima evolución fue primero utilizada por Edwards y Cavalli-Sforza (1963) sin proponer ningún algoritmo, posteriormente usando este principio se propuso un algoritmo (Rzhetsky y Nei, 1992) que posteriormente fue modificado (Rzhetsky y Nei, 1993). El fundamento matemático de este método prueba que utilizan estimaciones de distancias genéticas insesgadas, la esperanza del valor de **S** se hace pequeña por lo que se encuentra la topología verdadera independientemente del número de poblaciones, aunque el valor más pequeño de **S** no es necesariamente un estimador insesgado de la topología verdadera (Nei y Kumar, 2000). Al igual que los métodos de cuadrados mínimos se requiere examinar todas las topologías posibles para encontrar la que tiene el valor más pequeño de **S**.

### **Método Neighbor-Joining (NJ).**

Saitou y Nei (1987) desarrollaron un método de reconstrucción de árboles muy eficiente, que está basado en el principio de mínima evolución. Este método no examina todas las posibles topologías pero en cada grupo de poblaciones, se utiliza el principio de mínima evolución. Cuando se utilizan 4 o 5 poblaciones da idénticos resultados que el de Mínima evolución. Uno de los conceptos más importantes de este método es el de "vecino", el cual se define como dos poblaciones que están conectadas por un nodo en un árbol sin raíz. Este método ha demostrado ser el más eficiente en la práctica cuando no todos los supuestos estadísticos se cumplen (Takahashi y Nei, 2000; Tatenó y col., 1994).

Cuando se construye un árbol filogenético es importante saber la confiabilidad del árbol obtenido. Son dos los errores posibles: errores de topología (diferencias entre el árbol obtenido y el verdadero) y errores en el largo de las ramas (desviaciones del largo de las ramas obtenidas, respecto a las verdaderas). Aunque parecen situaciones independientes, el largo de las ramas, está directamente relacionado con la topología, si el largo de una rama es negativo, toda la topología es incorrecta (Nei y Kumar, 2000).

Algunas consideraciones generales de los métodos de reconstrucción más comunes son: que UPGMA es utilizado para datos de frecuencias alélicas cuando la tasa

evolutiva es prácticamente la misma para todas las poblaciones, mientras que NJ se utiliza para una gran variedad de situaciones. UPGMA produce un árbol con raíz, mientras que NJ no.

### **Métodos de re-muestreo**

Son técnicas estadísticas de remuestreo de datos de los *loci* que permiten dibujar muchos árboles, obtener valores fiables de los nodos del árbol y dotar al mismo de un alto grado de confianza.

Existen tres métodos de remuestreo:

#### **Bootstrap**

El método estadístico que permite evaluar la consistencia de la topología se denomina Simulaciones de Monte Carlo o Bootstrapping. Se basa en que la distribución de parámetro verdadero puede ser estimada por la generación de repeticiones y análisis de datos artificiales. Se generan por re-muestreo con reemplazo de los datos originales. La interpretación correcta no siempre es fácil, debido a que se considera la confianza estadística de todo el grupo en cuestión (todas las regiones), sin embargo, es complicado evaluar la confianza total en varias regiones del mismo árbol, debido a la poca relación de los valores asignados a distintos grupos. Conforme más grupos se consideren simultáneamente, los valores decrecen drásticamente y en árboles grades, difícilmente son significativos (Felsenstein, 2004). El método de bootstrap para filogenias ha mostrado que los valores de probabilidad son demasiado pesimistas debido a que subestima el valor verdadero (Bradley y col., 1996b; Zharkikh y Li, 1995); ellos indican que valores tan pequeños como 70% podrían significar valores de probabilidad adecuados para este tipo de estudios.

#### **Jackknife**

Este método consiste en realizar un muestreo aleatorio de la mitad de los caracteres e incluirlos en los datos. Los lotes de datos resultantes tienen la mitad de tamaño del original y los caracteres no se duplican. La variación aleatoria obtenida mediante este método es muy similar a la obtenida mediante el método de "bootstrapping".

#### **Permutación de caracteres**

En este método no se realiza un remuestreo en el sentido estricto, ya que consiste en permutar las columnas de la matriz de datos por separado. Esto produce matrices de datos con el mismo número y tipo de caracteres, pero sin estructura taxonómica. Se utiliza para distintos propósitos que el método de "bootstrapping" y examina, no la variación del árbol calculado, sino la hipótesis de que no hay estructura taxonómica en los datos: si un posible estadístico como el número de escalones evolutivos es significativamente menor en los datos actuales que en los permutados, se puede afirmar que existe alguna estructura taxonómica en los datos.

### **“Cuello de Botella”**

El entendimiento de los efectos en las poblaciones de un “cuello de botella” sobre la variabilidad genética ha adquirido gran importancia en los estudios sobre conservación. Los especialistas de la materia están de acuerdo en que debe evitarse en las poblaciones amenazadas, pues incrementa la consanguinidad, la pérdida de variabilidad genética, se incrementa la fijación de alelos deletéreos, se reduce el potencial adaptativo y se incrementa la probabilidad de extinción (Cornuet y Luikart, 1996). Las poblaciones que han sufrido recientemente una reducción severa en su tamaño se deben identificar, pues se incrementa el riesgo de su extinción.

Los cuellos de botella o fundadores, pueden ser importantes en la formación de nuevas especies. Por ejemplo, la colonización de un área por pocos individuos o el



apareamiento de solo una hembra, puede causar cambios genéticos que conduzcan al aislamiento reproductivo.

En los *loci* que son neutrales a la selección, el número de alelos y su distribución de frecuencias en las poblaciones naturales, resultan de un equilibrio entre la mutación y la deriva genética. Los parámetros para medir este equilibrio entre “mutación-deriva” son la tasa de mutación y el tamaño efectivo de población, el cual es pequeño en poblaciones que han sufrido un cuello de botella reciente (Kuehn y col., 2003).

Cuando una población ha experimentado recientemente una reducción en su tamaño efectivo, exhibe una reducción correlativa y progresiva del número de alelos y Heterocigosidad en los *loci* polimórficos. Pero la diversidad alélica se reduce más rápido que la Heterocigosidad en el “cuello de botella”. Como consecuencia hay una deficiencia transitoria del número de alelos fundadores en los individuos muestreados (Piry y col., 1999). Por ejemplo, la Heterocigosidad observada es mayor que la Heterocigosidad esperada del número de alelos en cada locus cuando hay equilibrio en mutación y deriva. En las poblaciones que no han sufrido un cuello de botella y mantienen el equilibrio entre mutación y deriva, la Heterocigosidad esperada ( $H_{eq}$ ) será igual a la del equilibrio Hardy-Weinberg ( $H_e$ ), pero si la población ha sufrido un cuello de botella reciente, el equilibrio de la mutación y deriva se rompe temporalmente y la Heterocigosidad medida en un locus ( $H_e$ ), excederá la Heterocigosidad ( $H_{eq}$ ) computada a partir del número de alelos. El cuello de botella genera un exceso de heterocigosis debido a que los alelos generalmente, se pierden más rápido que la Heterocigosidad, debido a que los alelos raros, se pierden rápidamente en un cuello de botella y ellos tienen poco efecto sobre la Heterocigosidad (Luikart y Cornuet, 1998). De esta manera, algunos alelos se pierden sin reducción de la Heterocigosidad. Si  $H_e$  es mayor que la  $H_{eq}$  en la mayoría de los *loci* entonces existe un exceso de Heterocigosidad que sugiere un “cuello de botella” reciente.

Estrictamente hablando, esto se ha demostrado solamente para *loci* que evolucionan en el modelo alélico infinitesimal (IAM), en este modelo, cada mutación produce un nuevo alelo que es diferente a los existentes (Kimura y Crow, 1964). Si el locus evoluciona bajo el modelo de mutación por pasos (SMM), el estado de un alelo cambia un paso adelante o hacia atrás, con igual probabilidad; teóricamente es más adecuado para la forma de mutar de los microsatélites, aunque ofrece los resultados menos realistas para la mayoría de los marcadores genéticos incluyendo los microsatélites (Cornuet y Luikart, 1996). Puede haber situaciones donde el exceso de la Heterocigosidad no se observa. Sin embargo, pocos *loci* siguen estrictamente el SMM y tan pronto como ellos se separan ligeramente de este modelo de mutación hacia el IAM, exhiben un exceso de Heterocigosidad como consecuencia de un cuello de botella. Los dos modelos SMM y IAM representan dos modelos extremos de mutación (Chakraborty y col., 1997). La mayoría de los *loci* probablemente evolucionan de acuerdo a un modelo intermedio entre IAM y SMM (Di Rienzo y col., 1994)

El exceso de Heterocigosidad inducido por el cuello de botella es transitorio y es detectable solo por un corto periodo, aproximadamente  $0.2-4.0 N_e$  generaciones, hasta que se alcanza nuevamente el equilibrio entre mutación y deriva con el nuevo tamaño efectivo de la población. De esta manera, solo cuellos de botella que se hayan producido recientemente (menos de  $4N_e$  generaciones) son detectados. Este lapso es aproximado y no solo depende de  $N_e$ , sino también de la tasa de mutación y el modelo de mutación de los *loci* muestreados (Ramey y col., 2000).

En una población en equilibrio entre mutación y deriva (tamaño efectivo permaneciendo constante desde el pasado), existe una probabilidad igual de que el locus muestre un exceso de Heterocigosidad o un déficit de Heterocigosidad. Las pruebas de exceso de Heterocigosidad no deben confundirse con las pruebas de equilibrio Hardy-Weinberg, estas últimas comparan las proporciones de heterocigotos observados ( $H_o$ ) con la Heterocigosidad esperada ( $H_e$ ), cuando la población está en equilibrio Hardy-Weinberg. Las pruebas de exceso de Heterocigosidad comparan  $H_e$  a la Heterocigosidad ( $H_{eq}$ ) esperada en una muestra que está en equilibrio entre

mutación y deriva génica, del mismo tamaño y con el mismo número de alelos que la muestra usada para medir  $H_e$  (Luikart y Cornuet, 1998). Es importante señalar que el cálculo de  $H_{eq}$  depende del modelo de mutación utilizado para analizar los *loci* (Cornuet y Luikart, 1996). Para determinar si existe un número significativo de *loci* con exceso de Heterocigosidad, Cornuet y Luikart (1996) y Luikart y col. (1998) proponen tres pruebas para detectar “cuellos de botella” recientes a partir de frecuencias alélicas de microsatélites; están basadas en el hecho de que las poblaciones que han experimentado una reducción reciente en el tamaño efectivo de la población, exhiben una reducción alélica mas rápida que la de Heterocigosidad en *loci* polimórficos. Se denominan “prueba de signos” (“sign test”), prueba de diferencias estandarizada (standardized differences test), y prueba de rangos de Wilcoxon de una cola para exceso de Heterocigosidad (Wilcoxon sign-rank test), la cual usa el número observado de alelos y el tamaño de muestra. Proponen un descriptor de la distribución de las frecuencias alélicas, el cual, discrimina algunas de las poblaciones con cuello de botella de otras estables.

### **Programa computacional utilizado para detectar “Cuello de botella”**

El programa de computo elaborado por Piry y col. (1999), denominado Bottleneck, computa para cada población y para cada locus la distribución de la Heterocigosidad esperada a partir del número observado de alelos ( $k$ ), dando el tamaño de muestra ( $n$ ) bajo el supuesto de equilibrio en mutación y deriva. Esta distribución se obtiene a partir de un proceso de simulación de la coalescencia de  $n$  genes bajo dos posibles modelos de mutación, IAM y SMM. Este programa incorpora otro modelo de mutación intermedio denominado Modelo de mutación de dos fases o TPM, por sus siglas en inglés (Two Phase Mutation model) Esto permite la computación del promedio de  $H_e$  que se compara con la Heterocigosidad observada, para establecer si hay un exceso de Heterocigosidad o déficit en ese locus. Además, se utiliza la desviación estándar de la distribución del equilibrio mutación-deriva de la Heterocigosidad, para computar la diferencia estándar de cada locus ( $(H_o-H_e)/SD$ ). La distribución obtenida a través de la simulación, permite también computar un valor de probabilidad para la Heterocigosidad observada.

La forma en la cual el proceso de coalescencia se simula es no convencional, debido a la condicionalidad del número de alelos observados. La filogenia de los  $n$  genes se simula de la manera usual (Piry y col., 1999). Bajo el modelo IAM, una simple mutación es colocada en el tiempo y el número resultante de alelos es computado. El proceso es repetido hasta que el último alcance el número observado de alelos. Bajo el modelo SMM, se usa un método bayesiano (Cornuet y Luikart, 1996). Brevemente, la distribución de la verosimilitud del parámetro theta ( $=4N_e\mu$ ) da el número de alelos ( $k$ ) y el tamaño de muestra ( $n$ ) es evaluado como una proporción de las iteraciones (en el proceso de simulación) produciendo exactamente  $k$  alelos para un grupo variable de thetas. Como un segundo paso, tomando los valores aleatorios de theta acorde a la distribución de verosimilitud, el proceso de coalescencia se simula de la manera usual. Solo son considerados los heterocigotos encontrados en iteraciones produciendo exactamente  $k$  alelos.

Una vez que todos los *loci* disponibles en una población han sido procesados, se hacen los tres estadísticos para cada modelo de mutación y la distribución de las frecuencias alélicas se establece con el fin de ver si se aproxima a la forma de una L. La inmigración reciente, puede ser una fuente de error particularmente importante. Esto lo es más, cuando los inmigrantes vienen de una población genéticamente divergente, debido a que esos inmigrantes podrían incrementar rápidamente el número de alelos raros en la población, sin afectar sustancialmente la Heterocigosidad enmascarando un incremento o decremento del tamaño de población. Un sesgo similar podría darse si la muestra incluye individuos de dos o mas poblaciones (población subestructurada) o híbridos entre poblaciones. Otra fuente de error es la presencia no detectada de alelos nulos en algunos *loci*. Todas estas situaciones

pueden ser detectadas realizando previamente la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg o la significancia de los estadísticos Fis. Deben hacerse antes de hacer la prueba de exceso de Heterocigosidad. Otro supuesto es el no-ligamiento entre los *loci*.

Debido a la naturaleza no-paramétrica de la prueba 1, está no requiere llenar ningún supuesto y se puede usar con un número pequeño de *loci*. En contraste, la aplicación de la prueba 2 es más restrictiva, se debe utilizar, solo si el número de *loci* es mayor a 20. La alta tasa de mutación de los microsátélites, los hacen adecuados para detectar cuellos de botella relativamente recientes, mientras que los marcadores que evolucionan más lentamente, como las aloenzimas, serán adecuados para detectar cuellos de botella más antiguos.

Las pruebas utilizadas para la detección del cuello de botella, son más eficientes si se incrementa el número de *loci* que si se incrementa el número de animales. Se recomienda utilizar al menos 20 animales por población (Cornuet y Luikart, 1996).

### **Análisis Multivariado.**

El análisis multivariado brinda los métodos estadísticos para el análisis conjunto de dos o más variables que pueden estar interrelacionadas. Debido a que las variables se consideran en forma simultánea, estas técnicas permiten realizar interpretaciones más complejas a las que surgen mediante la utilización de métodos univariados. El análisis multivariado utiliza las relaciones (correlaciones) entre las variables o entre los objetos que el método univariado no considera directamente.

Los análisis multivariados más comúnmente adoptados, en orden decreciente, son: análisis de componentes principales, análisis de funciones discriminantes, análisis de agrupamientos o clusters, regresión múltiple, análisis multivariado de la varianza, análisis de correspondencia, coordenadas principales, análisis factorial, correlación canónica, modelos logarítmicos lineales, escalamiento multidimensional, y la regresión logística múltiple. Los procedimientos enumerados del 1 al 7 utilizan combinaciones lineales de las variables, estos métodos son más eficientes con datos continuos, mientras que aquellos métodos enumerados del 8 al 12, comprenden métodos no lineales y son más apropiados cuando se cuenta con datos binarios (Shaw, 2003). Para examinar con mayor eficiencia datos binarios (presencia/ausencia) y datos en rangos, se pueden usar otros modelos donde las variables se combinan acordes con funciones no lineales. Como se mencionó anteriormente, el análisis multivariado aprovecha las relaciones entre las variables para buscar patrones o estructuras en los datos. En este sentido, podría encontrarse un origen de patrones cuando se realizan mediciones sobre grupos de objetos similares. Pueden existir casos donde no se conoce *a priori* si los grupos están ya formados, cuántos son, o cuáles objetos pertenecen a cada grupo; es allí donde habría que ver qué tipo de análisis es más apropiado.

### **Análisis Factorial de Correspondencia**

El análisis Factorial de correspondencia es el equivalente del procedimiento de Componentes Principales para variables cualitativas, intenta explicar una variable hipotética (factor), por medio de un modelo lineal en el que el factor (o varios factores) es función de un conjunto extenso de variables observables. Es una técnica descriptiva para representar tablas de contingencia, es decir, tablas en donde se recoge la frecuencia de aparición de dos o más variables cualitativas en un conjunto de elementos. En general una tabla de contingencia es un conjunto de números positivos dispuestos en una matriz, donde el número de cada casilla representa la frecuencia absoluta observada para la combinación de las dos variables.

El método de análisis de componentes principales (ACP), que es un ejemplo de análisis por ordenamiento, utiliza para tal fin las estructuras de los autovectores (también llamados eigens ó raíces latentes) de la matriz de correlación o bien de una matriz de varianza-covarianza entre las variables originales. El ACP y el análisis

factorial de correspondencia (AF) tienen como objetivo encontrar una estructura más simple reduciendo la dimensionalidad de las variables sin perder información. Para simplificar el análisis de los datos se reduce el número de variables a un pequeño número de índices o factores. Algunas diferencias entre estas dos técnicas son que las componentes principales están definidas como una combinación lineal de las variables originales y no están basadas en un modelo estadístico particular y por lo tanto no se requiere el cumplimiento de supuestos previos. Por otra parte mediante el ACP se busca explicar una gran parte de la varianza total, mientras que con el AF se enfatiza el estudio en las relaciones entre las variables explicadas con las covarianzas o correlaciones. El AF resulta apropiado cuando el objetivo consiste en encontrar un grupo de variables similares, altamente correlacionadas, y postular que esas similitudes provienen del hecho de que éstas son variables «latentes o factores» que actúan en forma particular sobre el proceso estudiado.

El análisis de correspondencia (AC) es un procedimiento de ordenación apropiado para datos de frecuencias (tablas de contingencia). En este caso, la distinción entre objeto y variable es menos relevante porque éstos son ordenados en forma simultánea.

El término masa (mass) en análisis de correspondencia es usado para denotar las entradas de las frecuencias relativas en una tabla de dos vías (cada entrada es dividida entre el total de entradas de la tabla). Los resultados del análisis de correspondencia son válidos, aún si las entradas de la tabla no son frecuencias, sino alguna otra forma de asociación. La suma de toda la tabla de frecuencias es igual a 1.0. Se podría decir que la tabla de frecuencias relativas muestra como la unidad de masa se distribuye entre todas las células de la tabla.

El término inercia es usado por su analogía en la física. Se define como la  $X^2$  total para una tabla de dos vías, dividida entre la suma total.

En el AF las variables están expresadas como una combinación y en el análisis factorial de correspondencia (AFC) es un tipo de análisis canónico particularmente bien adaptado para describir las asociaciones entre dos variables cualitativas, es decir, el análisis de una tabla de contingencia que cruza las modalidades de dos variables (Belkhir y col., 2003). Por consiguiente, las propiedades de este método se han venido a utilizar sobre tablas (gráficas). Se habla entonces de análisis de las correspondencias múltiples (ACM) en el cual cada individuo presenta normalmente el valor 1 una vez y una vez solamente para una única modalidad para cada variable (cuadro disyuntivo completo).

Con el programa computacional Genetix v.4.05 (Belkhir y col., 2003), se elabora un cuadro 0/1/2 que corresponde a una codificación más conveniente a los datos de la genética de los organismos diploides tal como fue propuesto por (She y col., 1987).

Concretamente, los objetos analizados se ven como una nube de puntos en un hiperespacio que tiene tantas dimensiones como alelos. El algoritmo busca las direcciones independientes, en este hiperespacio la longitud de las cuales la inercia - tamaño que, por analogía con la física, representa la integral de la masa (aquí por ej. el número de individuos en un punto del hiperespacio) multiplicada por el cuadrado de la distancia en el centro de los datos del hiperespacio (aún llamado centro de gravedad) es máxima. Estas direcciones, que son definidas por los vectores propios de la matriz, determinan una serie de ejes factoriales. Por convenio, el primer eje es el que tiene la más fuerte contribución a la inercia total.

Para utilizar los datos genotípicos individuales, cada individuo está representado por su resultado para cada modalidad de cada variable (los alelos de distintos locus), lo que representa 0 para la ausencia, 1 para la presencia del alelo en el estado heterocigoto y 2 para el estado homocigoto. Para cada eje determinado en el análisis, se calculan también un conjunto de coeficientes para cada uno de los individuos y alelos, se trata:

a) de las contribuciones absolutas: expresando la parte tomada por un elemento otorgado (individuo o alelos) en la inercia explicada por un factor.

b) de las contribuciones relativas: quiénes expresan la parte tomada por el eje en la contribución del individuo o el alelo a la inercia total (representando la dispersión de la nube de los puntos).

c) de los datos de todos los puntos, individuos y alelos, a los distintos ejes, salvaguardados en un fichero. Este último puede utilizarse en otra utilidad gráfica para dibujar nubes de puntos. Estos datos se utilizan también para dibujar nubes de puntos en dos o tres dimensiones, a las cuales es posible hacer sufrir rotaciones y zooms, para imaginarlos bajo ángulos diferentes.

En otras palabras, el análisis de correspondencia puede condensar la información de un gran número de alelos y *loci* en pocas variables sintéticas. Con este método las frecuencias alélicas de las poblaciones en todos los *loci*, se usan como variables y el cluster de cada población se representa gráficamente (Li y col., 2005).

### **Asignación de Individuos a Poblaciones a partir de Técnicas Moleculares.**

Se han descrito varios métodos con la finalidad de asignar correctamente individuos a poblaciones (Cornuet y col., 1999; Falush y col., 2003; Paetkau y col., 1995; Paetkau y col., 2004; Pritchard y col., 2000; Rannala y Mountain, 1997)

Básicamente, existen dos métodos:

a) Métodos basados en distancia genética.

Se basa en el cálculo de la matriz de distancia entre cada par de individuos y se representa entonces de forma gráfica en forma de árbol y los clusters son identificados de manera visual. Son generalmente fáciles de aplicar, aunque tienen algunas desventajas: los clusters identificados suelen ser muy dependientes de los métodos de distancia empleados y de la representación gráfica escogida; es difícil evaluar la confianza de los clusters obtenidos en esta forma y determinar que tan significativo puede ser el resultado y su dificultad para adicionar información complementaria como la localización geográfica de los individuos muestreados. Se han definido numerosas distancias genéticas; sin embargo las podemos dividir en dos grandes bloques: las distancias entre poblaciones (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967; Nei, 1972; Reynolds y col., 1983), y las distancias entre individuos (distancia de alelos compartidos) (Chakraborty y Jin, 1993b). La distancia de un individuo a una población es considerada como el promedio de la distancia entre el individuo y los miembros de la población.

b) Métodos basados en modelos probabilísticos.

Estos asumen que cada cluster es tomado de algún modelo paramétrico, se infieren los parámetros de cada cluster y entonces se hace la inferencia del cluster de cada individuo. Los inconvenientes de estos métodos, son que suponen que las frecuencias alélicas se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg y que el ligamiento entre alelos también lo está; en un momento dado se deben corroborar estos supuestos.

Dentro de los métodos probabilísticos, también encontramos dos:

b.1) Método de frecuencias

Asigna los individuos a la población en la que el genotipo del individuo es más probable que ocurra. Lo hace en tres pasos:

- Computa las frecuencias alélicas de las poblaciones potenciales
- Computa la verosimilitud de que el genotipo multilocus ocurra en cada población
- Asigna el individuo a la población en la cual el genotipo obtuvo la mayor probabilidad.

Existen algunos problemas cuando los individuos a asignar tienen alelos raros que no están en la población base.

## b.2) Métodos Bayesianos.

Estos métodos son similares al de frecuencias, pero asumen una densidad de probabilidad *a priori* de las frecuencias alélicas de cada locus en cada población. Los realiza de la misma forma que el anterior, solo cambia la fórmula de cálculo de la verosimilitud. La diferencia principal, es que la influencia de la frecuencia de alelos raros aquí desaparece.

En el caso de los métodos Bayesianos, para obtener el grado de relación entre grupos se han utilizado los polimorfismos del ADN, donde construyen cadenas o clusters. Se trata de determinar si partes del genoma (clusters) son heredados en una tasa mas alta de la normal desde una población parental, para ello se requiere que las poblaciones se hayan muestreado adecuadamente (Falush y col., 2003). Este método pretende asignar individuos a poblaciones con base a sus genotipos estimando las frecuencias alélicas de cada locus.

En primera instancia se consideran datos de un genotipo multilocus de individuos muestreados, colectados de una población con estructura desconocida. Pritchard y col. (2000) introdujeron un método para identificar poblaciones diferentes; posteriormente se estudia la ascendencia de los individuos muestreados. Se consideran dos modelos para la ascendencia de los individuos, el primero un modelo no-combinado, en el que se asume que los individuos son tomados de forma pura de una de las  $k$  poblaciones y el modelo combinado, en el que se permite mezcla de los ancestros; es decir, una fracción  $q_k$  del genoma de un individuo viene de la subpoblación  $K$  ( $\sum_k q_k = 1$ ). En ambos modelos se supone que no existe ligamiento entre ellos y que proporcionan información independiente de los ancestros de los individuos en cuestión.

Por otra parte, Falush (2003) introdujo un modelo en el que se acepta ligamiento entre los marcadores, el cual se incluye en el modelo combinado, para explicar la correlación entre los marcadores ligados. Este modelo permite la estimación del origen de la región del cromosoma dentro del individuo y proporciona una mejor resolución en el estudio del proceso histórico de la muestra. Estos modelos están disponibles en el programa Structure v 2.0 disponible en: <http://pritch.bsd.uchicago.edu>.

Los supuestos principales para estos modelos son que las frecuencias génicas están en equilibrio en el ligamiento y que existe equilibrio Hardy-Weinberg dentro de las poblaciones, por tanto, la similitud del genotipo del individuo  $i$  está condicionada por las frecuencias alélicas de su población de origen ( $Z_i$ ).  $Q$  es el vector multidimensional de la proporción de los ancestros para todos los miembros de la muestra. El valor de  $\alpha$  representa el valor relativo de la población  $K$  al material genético de la muestra; cuando los valores de  $\alpha$  son mayores a 1, cada individuo está tomando copias de alelos de las  $K$  poblaciones en igual proporción. Para valores pequeños de  $\alpha$  ( $<1$ ), cada individuo se origina sobre todo en una población, con cada una siendo igualmente probable. Conforme  $\alpha$  tiende a 0, el modelo se va haciendo similar al no-combinado

En el caso del método propuesto por Cornuet y col, (1999) incluye dos métodos de asignar individuos a poblaciones: basados en verosimilitud y en distancias (GeneClass, disponible en <http://www.motpellier.inra.fr/CBGP/software>).

En el primer caso los individuos son asignados a las poblaciones en las cuales la verosimilitud de sus genotipos es más alta. En el segundo, los individuos se asignan a la población más cercana genéticamente. Además, cada método de asignación puede ser utilizado de dos formas, en una forma directa se asignan los individuos y en las otras se hace una simulación, la probabilidad de que un individuo pertenezca a cada una de las poblaciones. Puede ser utilizada para determinar las poblaciones origen de los individuos

### A. Métodos basados en verosimilitud

Los dos métodos siempre asignan a una población de referencia, sin embargo, la población de referencia no siempre incluye la población verdadera de origen del

individuo. Para ello, se utiliza la simulación de los genotipos multilocus de forma aleatoria acorde a sus frecuencias en las poblaciones y entonces se presentan varios métodos con la computación de la probabilidad (Baudouin y Lebrun, 2001; Paetkau y col., 1995; Rannala y Mountain, 1997).

El algoritmo de simulación de Paetkau y col (2004) se basa en un método de remuestreo que toma en cuenta el desequilibrio por ligamiento producido por la inmigración en generaciones recientes. El poder de la prueba aumenta si se utilizan muestras superiores a 50 individuos y se consideran en el muestreo todas las poblaciones de las que se pudieron haber generado los migrantes.

### **Consideraciones sobre los métodos de asignación**

La asignación individual a partir de los métodos de distancia genética representados por medio de un árbol, permite a simple vista constatar la presencia de los cluster de cada raza y se pueden detectar individuos que tienen algo diferente a su población; sin embargo, adolece de alguna forma objetiva de constatar la precisión del método, por lo que se pueden utilizar para una primera exploración de los datos, ya que son fáciles de hacer y hay varios programas computacionales para su elaboración. Otro inconveniente de este método, es que asignan los individuos a las razas preestablecidas y en algunas circunstancias no permiten detectar animales que no corresponden a las razas de referencia. Respecto al algoritmo de Pritchard y col. (2000), es una herramienta muy poderosa, que permite detectar los clusters y además da los dos tipos de representación, gráfica y en proporción, al utilizar un número elevado de iteraciones, da una fiabilidad elevada a los resultados. Tiene también la ventaja, de que aunque se desconozca el origen de las poblaciones, automáticamente, de acuerdo a las frecuencias alélicas de los individuos, los asigna al cluster correspondiente, a la vez que indica el número de clusters o poblaciones involucradas en la muestra. Sin embargo, la interpretación de los datos es complicada cuando se tienen individuos mezclados genéticamente pues el número de poblaciones se determina en el ámbito de probabilidad y en algunos casos, se requiere experiencia para seleccionar el número correcto de k poblaciones.

A pesar de los avances en los sistemas computacionales y software, los actuales procedimientos estadísticos para estimar la migración o el grado de pureza de una población son aún rudimentarios. Se requieren algoritmos que permitan estimar los haplotipos de origen. (Cavalli-Sforza y Feldman, 2003).





## MATERIALES Y MÉTODOS.

### **Material Animal.**

Se utilizaron muestras de 22 poblaciones bovinas, 18 de *Bos taurus*: 5 de Criollos Mexicanos, 4 de Criollos sudamericanos, 1 raza Británica y 8 europeas continentales (dentro de estas, 6 españolas). De *Bos indicus* 3 y una raza sintética cruce de Holstein y Cebú (Tabla 3). Para mayor facilidad en la presentación de tablas y figuras, se utilizaron los códigos de población. Se intentó obtener cuando menos 30 muestras de cada población, sin embargo, solo se logró en 15 poblaciones. El muestreo fue de cuando menos tres explotaciones. Los animales de raza pura, tenían que estar inscritos en el libro genealógico de la asociación correspondiente. En el caso de los animales Criollos, se pretendió que fenotípicamente fueran representativos del grupo correspondiente, al no contar con registros.

**Tabla 3. Poblaciones analizadas, número de animales (n), especie, muestra y origen**

Población	N	Especie	Muestra	Origen	Código de Población
Criollo Baja California	21	<i>Bos taurus</i>	ADN	México	CBC
Criollo Chiapas	30	<i>Bos taurus</i>	Pelo	México	CHI
Criollo Chihuahua	19	<i>Bos taurus</i>	ADN	México	CHU
Criollo Nayarit	24	<i>Bos taurus</i>	ADN	México	CNY
Criollo Poblano	43	<i>Bos taurus</i>	ADN	México	CPO
Criollo Argentino	45	<i>Bos taurus</i>	Pelo	Argentina	CAR
Criollo Colombiano	36	<i>Bos taurus</i>	Sangre	Colombia	CCO
Criollo Patagónico	36	<i>Bos taurus</i>	Pelo	Argentina	CPAT
Criollo Uruguayo	45	<i>Bos taurus</i>	ADN	Uruguay	CUR
Hereford	25	<i>Bos taurus</i>	Pelo	México	HER
Holstein	28	<i>Bos taurus</i>	Pelo	Portugal	HOL
Pardo Suizo	31	<i>Bos taurus</i>	Pelo	México	SPA
Berrenda en Colorado	40	<i>Bos taurus</i>	Sangre	España	BCO
Berrenda en Negro	32	<i>Bos taurus</i>	Sangre	España	BNE
Marismeña	40	<i>Bos taurus</i>	Sangre	España	MAR
Pajuna	40	<i>Bos taurus</i>	Sangre	España	PAJ
Canaria	44	<i>Bos taurus</i>	Pelo	España	CAN
Palmera	43	<i>Bos taurus</i>	Sangre	España	PAL
Brahman	38	<i>Bos indicus</i>	Pelo	México	BRH
Gyr	29	<i>Bos indicus</i>	Pelo	México	GYR
Nelore	29	<i>Bos indicus</i>	Pelo	Brasil	NEL
Holandocebú	43	<i>Cruza</i>	Pelo	México	HOC

### **Obtención de muestras.**

Las muestras de ADN purificado, se obtuvieron de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional Autónoma de México (Tabla 3).

Las muestras de pelo se recogieron en sobres de papel individuales y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su ingreso al Laboratorio.

Las muestras de sangre se congelaron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

### **Preparación de muestras**

La extracción de ADN a partir de sangre y pelo se hizo por medio de una resina purificadora comercial (kit BLOODCLEAN de purificación de ADN) de BIOTOOLS – Biotechnological & Medical Laboratories, S.A<sup>®</sup>., el protocolo se adaptó para obtener ADN de calidad suficiente para la amplificación de microsatélites por PCR, no es necesaria su purificación ni cuantificación.

Los pasos para la extracción de ADN a partir de pelo fueron los siguientes:

- Cortar las raíces de 3 a 5 pelos e introducirlos en microtubos.
- Homogeneizar la resina purificadora en un agitador magnético durante 2 minutos.
- Añadir 100  $\mu\text{l}$  de resina purificadora.
- Incubar a  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 5 minutos.
- Conservar a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

En el caso de las muestras de sangre, el método fue el siguiente:

- Homogeneizar la resina purificadora en un agitador magnético durante 2 minutos.
- Mezclar 3  $\mu\text{l}$  de sangre total con 100  $\mu\text{l}$  de resina purificadora.
- Incubar a  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 5 minutos.
- Conservar a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## **Análisis de Laboratorio**

### **Microsatélites caracterizados**

Se estudiaron 24 microsatélites seleccionados a partir de las recomendaciones hechas por la FAO/ISAG (Food and Agriculture Organization/ International Society of Animal Genetics) para realizar estudios de biodiversidad genética (FAO, 2004) y tres más utilizados por el Proyecto Europeo de “Análisis de la Diversidad Genética en los Bovinos”, coordinado por el Instituto Roslin, que pretende estandarizar los marcadores utilizados por los laboratorios participantes (ver <http://www.projects.roslin.ac.uk/cdiv/markers.html>). El microsatélite, el cromosoma donde está localizado, los cebadores utilizados y el rango de tamaño de los alelos se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 4. Nombre del microsatélite, cromosoma (Cro) de localización, secuencia de los cebadores utilizados y rango del tamaño de los alelos**

Nombre	Cro	Cebadores	Rango (pb)	Ref.
<i>BM1314</i>	26	TTCCTCCTCTTCTCTCAAAC ATCTCAAACGCCAGTGTGG	143-167	1
<i>BM1818</i>	23	AGCTGGGAATATAACCAAAGG AGTGCTTTCAAGGTCCATGC	248-278	1
<i>BM1824</i>	1	GAGCAAGGTGTTTTTCCAATC CATTCTCCAACGCTTCCTTG	176-197	1
<i>BM2113</i>	2	GCTGCCTTCTACCAAATACCC CTTCCTGAGAGAAGCAACACC	122-156	1
<i>BM8125</i>	17	CTCTATCTGTGGAAAAGGTGGG GGGGGTTAGACTTCAACATACG	109-123	1
<i>CRSM60</i>	10	AAGATGTGATCCAAGAGAGAGGCA AGGACCAGATCGTGAAAGGCATAG	79-115	2
<i>CSSM66</i>	14	ACACAAATCCTTTCTGCCAGCTGA AATTTAATGCACTGAGGAGCTTGG	171-209	3
<i>ETH10</i>	5	GTTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA CCTCCAGCCCACTTTCTCTTCTC	207-231	4
<i>ETH185</i>	17	TGCATGGACAGAGCAGCCTGGC GCACCCCAACGAAAGCTCCAG	214-246	5
<i>ETH225</i>	9	GATCACCTTGCCACTATTTCT ACATGACAGCCAGCTGCTACT	131-159	5
<i>ETH3</i>	19	GAACCTGCCTCTCCTGCAATTGG ACTCTGCCTGTGGCCAAGTAGG	103-133	4
<i>HAUT24</i>	22	CTCTCTGCCTTTGTCCCTGT AATACTTTAGGAGAAAAATA	104-158	6
<i>HAUT27</i>	27	TTTTATGTTTCAATTTTTGACTGG AACTGCTGAAATCTCCATCTTA	120-158	6
<i>HELI3</i>	11	TAAGGACTTGAGATAAGGAG CCATCTACCTCCATCTTAAC	178-200	7
<i>HEL9</i>	8	CCCATTTCAGTCTTCAGAGGT CACATCCATGTTCTCACCAC	141-173	7
<i>ILSTS011</i>	14	GCTTGCTACATGGAAAGTGC CTAAAATGCAGAGCCCTACC	261-271	8
<i>ILSTS006</i>	7	TGTCTGTATTTCTGCTGTGG ACACGGAAGCGATCTAAACG	277-309	9
<i>INRA23</i>	3	GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC TAACTACAGGGTGTTAGATGAACTC	195-225	10
<i>INRA32</i>	11	AACTGTATTCTCTAATAGCTAC GCAAGACATATCTCCATTCCTTT	160-204	10
<i>INRA35</i>	16	ATCCTTTGCAGCCTCCACATTG TTGTGCTTTATGACACTATCCG	100-124	10
<i>INRA37</i>	10	GATCCTGCTTATATTTAACCAC AAAATTCCATGGAGAGAGAAAC	112-148	10
<i>INRA63</i>	18	ATTTGCACAAGCTAAATCTAACC AAACCACAGAAATGCTTGGAAG	167-189	10
<i>MM12</i>	9	CAAGACAGGTGTTTCAATCT ATCGACTCTGGGGATGATGT	101-145	11
<i>SPS115</i>	15	AAAGTGACACAACAGCTTCTCCAG AACGAGTGTCCTAGTTTGGCTGTG	234-258	2
<i>TGLA122</i>	21	CCCTCCTCCAGGTAAATCAGC AATCACATGGCAAATAAGTACATAC	136-184	3
<i>TGLA227</i>	18	CGAATTCCAAATCTGTTAATTTGCT ACAGACAGAAACTCAATGAAAGCA	75-105	12
<i>TGLA53</i>	16	GCTTTCAGAAATAGTTTGCATTCA ATCTTCACATGATATTACAGCAGA	143-191	12

1 (Bishop y col., 1994);2 (Moore y col., 1994); 3 (Barendse y col., 1994); 4 (Solinas Toldo y col., 1993);

Nombre	Cro	Cebadores	Rango (pb)	Ref.
5 (Steffen y col., 1993); 6 (Thieven y col., 1997); 7 (Kaukinen y Varvio, 1993); 8 (Brezinsky y col., 1993a); 9 (Brezinsky y col., 1993b); 10 (Vaiman y col., 1994); 11 (Mommens y col., 1994); 12 (Kappes y col., 1997)				

### Amplificación por PCR.

Los microsatélites se amplifican mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se diseñaron varias reacciones múltiples para reducir los costos de los experimentos. Las condiciones de amplificación se presentan en la Tabla 5.

**Tabla 5. . Condiciones de amplificación de los microsatélites**

Nombre	Multiplex	Temperatura de anillamiento	Gel de electroforesis	Fluorocromo	Color
<i>BM1314</i>	M1	55°C	G1	HEX	Verde
<i>BM1818</i>	M2	55°C	G1	FAM	Azul
<i>BM1824</i>	M6	55°C	G3	NED	Amarillo
<i>BM2113</i>	M4	60°C	G2	FAM	Azul
<i>BM8125</i>	M2	55°C	G1	FAM	Azul
<i>CRSM60</i>	M3	55°C	G2	NED	Amarillo
<i>CSSM66</i>	M1	55°C	G1	HEX	Verde
<i>ETH10</i>	M1	55°C	G1	FAM	Azul
<i>ETH185</i>	M4	60°C	G2	NED	Amarillo
<i>ETH225</i>	M6	55°C	G3	NED	Amarillo
<i>ETH3</i>	M7	55°C	G3	FAM	Azul
<i>HAUT24</i>	M7	55°C	G3	NED	Amarillo
<i>HAUT27</i>	M5	55°C	G2	NED	Amarillo
<i>HEL13</i>	M5	55°C	G2	NED	Amarillo
<i>HEL9</i>	M3	55°C	G2	FAM	Azul
<i>ILSTS011</i>	M6	55°C	G3	HEX	Verde
<i>ILSTS006</i>	M3	55°C	G2	HEX	Verde
<i>INRA23</i>	M5	55°C	G2	HEX	Verde
<i>INRA32</i>	M2	55°C	G1	NED	Amarillo
<i>INRA35</i>	M6	55°C	G3	HEX	Verde
<i>INRA37</i>	M5	55°C	G2	HEX	Verde
<i>INRA63</i>	M3	55°C	G2	HEX	Verde
<i>MM12</i>	M2	55°C	G1	NED	Amarillo
<i>SPS115</i>	M4	60°C	G2	NED	Amarillo
<i>TGLA122</i>	M1	55°C	G1	FAM	Azul
<i>TGLA227</i>	M3	55°C	G2	HEX	Verde
<i>TGLA53</i>	M7	55°C	G3	HEX	Verde

Gráficamente se presenta en la Figura 3 la distribución de geles para visualizar la electroforesis.

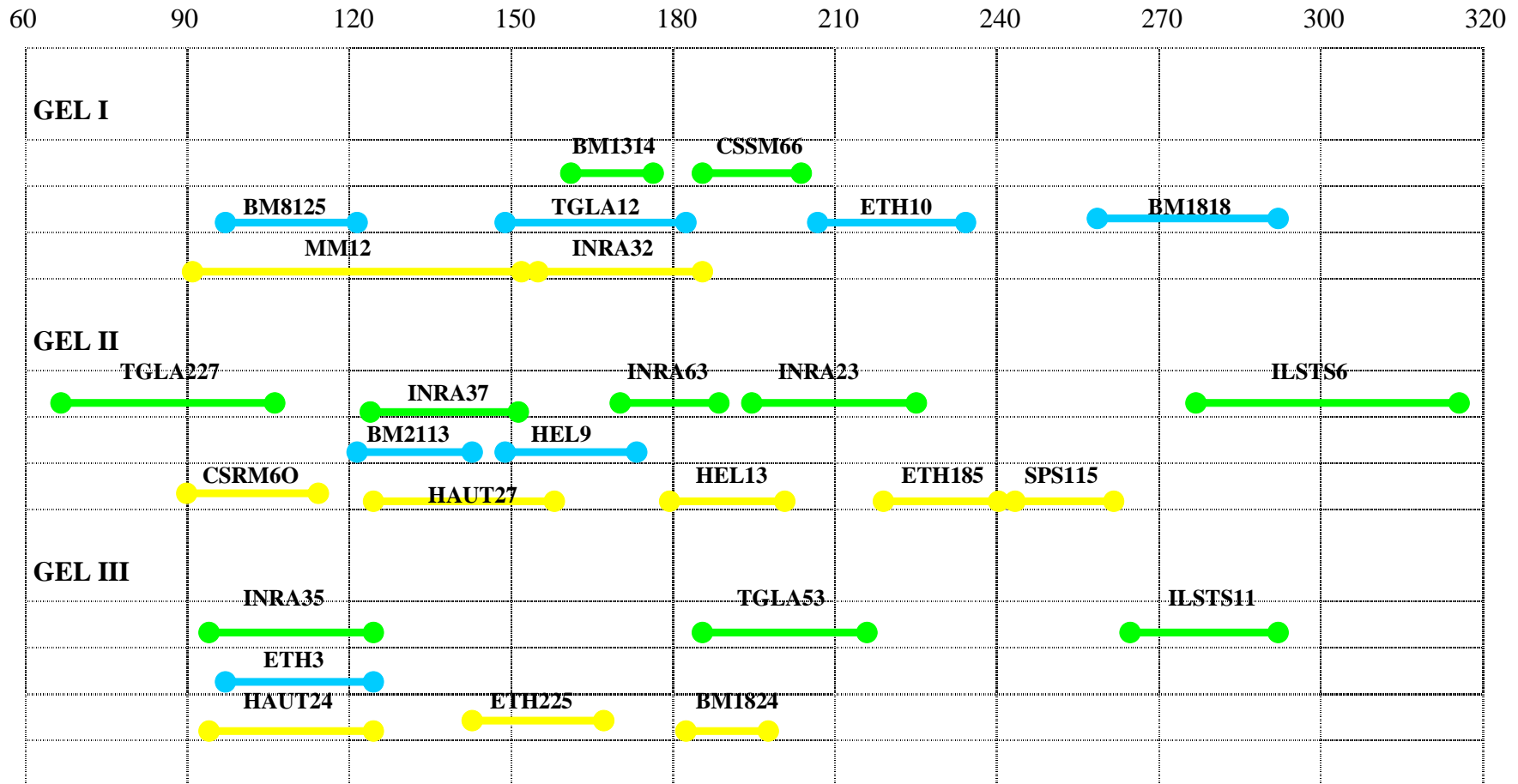


Figura 3. Condiciones de electroforesis para visualización de los microsatélites

La amplificación de los microsatélites se realizó utilizando el material y condiciones básicas siguientes:

**Material**

- Tampón PCR 10X: 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl PH=8, 1% Triton X-100 al 0.1%
- MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM
- Desoxiribonucleótidos: dATP 25 mM, dCTP 25 mM, dGTP 25 mM, dTTP 25 mM (ABGene)
- Cebador Directo 100 mM
- Cebador Reverso 100 mM
- ADN polimerasa: 5 U/μl (Biotools)
- Muestra: ADN obtenido mediante el protocolo 1 o 2
- Aceite mineral (Sigma)
- Agua ultrapura
- Placas de 96 tubos de 0,2 ml Thermo-Fast® 96 (Avanced Technologies)
- Termociclador PTC-100 (MJ-Research)

**METODO**

- Dispensar 5 μl de muestra en los pocillos de las placas de PCR.
- Preparar una solución que contenga: agua (4.5 μl por muestra) y los cebadores correspondientes (1 μl de cada uno por muestra). Poner 10 μl de esta solución en cada pocillo.
- Cubrir cada pocillo con 20 μl de aceite mineral.
- Calentar a 95 °C durante 10 minutos
- Preparar una solución que contenga: Tampón PCR 10X (3 μl por muestra), MgCl<sub>2</sub> 1 μl, dNTPs (0,2 μl por muestra), ADN polimerasa (0,2 μl por muestra) y el agua necesaria para completar un volumen de 10 μl por muestra.
- Añadir 10 μl de la solución de polimerasa en cada pocillo (“Hot Start”).
- Realizar 35 ciclos: 95 °C/30 segundos, T.A./45 segundos (Tabla 5), 72 °C/30 segundos
- Mantener a 72 °C durante 30 minutos
- Conservación a –20 °C hasta posterior procesamiento.

**Elaboración del gel**

Para realizar la separación por tamaños de los fragmentos obtenidos mediante la PCR se sometieron éstos a una electroforesis en gel de poliacrilamida en un secuenciador automático ABI Prism 377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Se utilizó un preparado comercial Reprogel 377 de America Pharmacia Biotech® que tiene una concentración final de 6% de acrilamida/bisacrilamida, un agente desnaturalizante (Urea) un iniciador para luz ultravioleta y TBE. El gel se moldeó con cristales de 28 cm de largo y 22 cm de ancho con separadores de 0.4 mm de espesor y se utilizó un peine con 50 pocillos. El método de elaboración se realizó de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Antes de elaborar el gel, se verificó que los cristales estuvieran lo suficientemente limpios para que no interfirieran en la lectura de la fluorescencia.

**Electroforesis y tipificación de las muestras**

Una vez polimerizado el gel se colocó en el secuenciador automático, se llenaron las cubetas de electroforesis superior e inferior, con tampón TBE 1X y se ajustaron las condiciones eléctricas recomendadas por el fabricante del secuenciador.

Las muestras resultantes de la PCR se mezclaron de forma que se pudieran analizar en cada gel varios microsatélites. De esta manera, para analizar los 27 microsatélites en cada muestra, se realizaron tres geles con los productos de la amplificación de las

distintas reacciones de la siguiente manera: M1+M2 en la primera, M3+M4+M5 en la segunda y M6+M7 en la tercera.

Para cargar el gel se tomaron 1,5  $\mu$ l de la mezcla correspondiente y se le añadieron 3  $\mu$ l del tampón de carga (1000  $\mu$ l de formamida desionizada, 200  $\mu$ l de azul dextrano y 100  $\mu$ l del estándar de tamaños Genescan 400HD-ROX). Se desnaturalizaron las muestras calentando a 95 °C durante 2 minutos y se cargaron 3,5  $\mu$ l de las mismas en el gel. La electroforesis duró aproximadamente 2 horas, transcurridas las cuales se procedió a la tipificación de las muestras.

Con el programa Genescan Analysis (Genescan 672 v.3.1.2) se analizaron los datos obtenidos del secuenciador automático que proporciona información del tamaño de los fragmentos estudiados.

El empleo del secuenciador automático y de las aplicaciones informáticas, ofrecen la posibilidad de marcar los cebadores de ADN con fluorocromos de tres colores diferentes (azul, verde y amarillo), usando otro fluorocromo de un cuarto color (rojo) para marcar un estándar de tamaños. Los fluorocromos son sustancias que al ser excitadas por un rayo láser de longitud de onda apropiada, emiten fluorescencia. Cada fluorocromo tiene un máximo de emisión dentro de un rango de longitudes de onda. Mediante un sistema de filtros adecuado, el aparato detecta cada fluorocromo en su rango de longitud de onda óptimo y muestra una señal fluorescente en el color correspondiente. De esta forma se optimiza el rendimiento del gel ya que se pueden cargar en un mismo pocillo varios microsatélites de igual tamaño y marcados con tres fluorocromos distintos. Los fluorocromos utilizados se describen en la Tabla 5.

El estándar de tamaños utilizado es Genescan 400HD-ROX, es útil para calcular tamaños de fragmentos entre 35 y 400 nucleótidos en fragmentos de tamaño 50, 60, 90, 100, 120, 150, 160, 180, 190, 200, 220, 240, 260, 280, 290, 300, 320, 340, 360, 400 marcados con ROX.

Una vez que se tiene el tamaño de cada banda se procede a seleccionar aquellas que representen un alelo y a descartar las secundarias e inespecíficas. Esta labor entraña cierta dificultad en algunos marcadores pues el efecto de bandas sombras o tartamudas es característico de microsatélites cuya variación se basa en repeticiones de grupos de dos bases como es el caso de los que se han tipificado en este trabajo. El criterio seguido en este caso fue el de observar las gráficas de densitometría de cada grupo de bandas y seleccionar el pico correspondiente al fragmento de mayor longitud del grupo de fragmentos que componen el alelo y que suele coincidir con el de mayor intensidad de señal. Los individuos heterocigotos con dos alelos separados un par de bases se presentan con una imagen de solapamiento de su grupo de picos; en este caso es muy importante valorar el cambio de la curva de intensidad de la señal de los dos primeros picos con respecto a la que proporcionaría si fuese un individuo homocigoto. Mediante el programa Genotyper 3.7 NT, se analizaron las gráficas de las bandas obtenidas con el programa Genescan y se identificaron los diferentes alelos presentes en cada uno de los microsatélites.

Hay dos fuentes de error que aconsejan emplear una denominación alélica y no el tamaño del fragmento calculado por el programa. El protocolo que se usa para asignar el tamaño es el de construir dos curvas de regresión alrededor de cada pico detectado. Una de ellas incluye las dos bandas del estándar de tamaños inmediatamente superiores y la inmediata inferior; la otra se calcula tomando como referencia las dos inferiores y la primera superior. A continuación se asigna el tamaño medio de los obtenidos en cada caso. En la práctica se observa que el cálculo del escalonamiento de los alelos de un marcador no es exactamente de dos bases sino que frecuentemente es de 2.2. Así si el más pequeño fuese de 130.00 pares de bases, el siguiente sería 132.20 y el quinto no sería de 140.00 sino de 141.00. Para no tener que trabajar con decimales, sabiendo que el número de nucleótidos es absoluto, la solución es asignar a cada alelo una denominación numérica o alfanumérica, que además facilitará el trabajo posterior de tratamiento estadístico de los datos obtenidos. En este caso, se procedió a asignar al alelo identificado con el valor más pequeño, el

valor numérico como nombre. El criterio seguido, ya que no hay una denominación internacional estándar, fue que al resto de alelos, presentes o no, se les reservó una categoría sucesiva en tramos de incremento de tamaño de dos en dos bases. De esta manera, el alelo 140 del ejemplo, líneas arriba, se denominaría 140 aunque su tamaño fuera de 141.

La otra fuente de error se produce al comparar los resultados de electroforesis distintas, siempre existen pequeñas variaciones que pueden originar a la postre un error en los cálculos que, cuando se aproxima a un par de bases origina una duda severa en la identificación alélica. Siguiendo el ejemplo anterior, si el primer alelo tiene un pico de 131,00 en lugar de 130,00 es muy difícil saber si es el alelo 130 o el 132 de otras tandas de electroforesis. Este error se corrige disponiendo en todos los geles una o dos muestras de control. De esta forma si el alelo era el 130 y el cálculo en este gel arroja 131, la muestra control tendrá también 131 con lo que se puede corregir fácilmente la denominación de todos los alelos. Las muestras de control no sólo se usan para la electroforesis sino que se amplifican con cada tanda de 46 muestras con lo que se tiene un control de la amplificación en cada caso. La ventaja de utilizar dos muestras de control, en vez de una, es que se abarcan más alelos de un mismo microsatélite y se disminuye la probabilidad de que un fallo en la amplificación o carga del gel recaiga sobre las dos muestras control, con lo que no se podría tipificar la tanda.

### **Análisis Estadístico.**

Para el cálculo de las frecuencias alélicas y genotípicas de cada locus y la prueba de equilibrio HW, según Guo y Thompson (1992) con el algoritmo en Cadena de Monte Carlo Markov, se utilizó el programa informático GENEPOP versión 3.1c (Raymond y Rousset, 1995).

La Heterocigosidad Observada y esperada. el análisis de correspondencia, el número de migrantes y el valor de Fis por población con intervalo de confianza se realizó con el programa GENETIX V. 4.05.02 (Belkhir y col., 2003).

Los valores de PIC fueron calculados mediante la fórmula de Botstein y col.(1980), con el complemento The Excel Microsatellite Toolkit (Park, 2001), utilizando el programa MS EXCEL 2000.

Se calculó el Fst por cada par de poblaciones y con nivel de probabilidad, además se definieron grupos de poblaciones por su origen (Criollos Mexicanos, Criollos suramericanos, europeos, españoles) utilizando la información *a priori* y se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) el cual permitió la partición de la varianza genética total en varios componentes entre grupos y entre poblaciones. Con los componentes de varianza se computaron índices de fijación y su significancia estadística con permutaciones de acuerdo a Excoffier y col. (1992) con el paquete Arlequin 3.01 (Excoffier y col., 2005).

Para el análisis de cuello de botella se utilizó el programa BOTTLENECK (Piry y col., 1999). Las pruebas de exceso de Heterocigosidad comparan He a la Heterocigosidad (Heq) esperada en una muestra que está en equilibrio entre mutación y deriva génica, del mismo tamaño y con el mismo número de alelos que la muestra usada para medir He (Luikart y Cornuet, 1998). El programa efectúa otras pruebas no paramétricas para reafirmar lo hallado en el análisis anterior. Una prueba de signos sirve para comparar estadísticamente el número esperado de *loci* con exceso de Heterocigosidad con la Heterocigosidad Observada. Esta prueba no toma en consideración la magnitud del exceso o deficiencia de Heterocigosidad. La prueba de diferencias estandarizadas (Standardized Differences Test, el cual requiere más de 20 *loci* analizados) sirve para evaluar la magnitud del exceso de Heterocigosidad al compararlo con el estadístico T2 con distribución N (0,1). Si T2 es menor a 1.645 no se rechaza la hipótesis nula (Cornuet y Luikart, 1996). Por último, la prueba de Wilcoxon contrasta la hipótesis nula



de equilibrio contra las hipótesis alternativas de exceso y deficiencia de heterocigosis. El modelo de mutación utilizado fue el TPM (Two Phase model) que es el que recomienda para microsatélites el diseñador del programa.

Se realizó un Análisis factorial de Correspondencia sobre las poblaciones utilizando en programa GENETIX v.4.05.2 (Belkhir y *col.*, 2003)

Para evaluar la distancia genética entre poblaciones se calcularon las distancias genéticas  $D_S$  (Nei, 1972) y  $D_A$  de Nei et al. (1983) sugeridas por Takezaki (1996), y de Reynolds (1983). Se analizó la relación entre las matrices de distancia mediante correlaciones de Pearson con el procedimiento Proc CORR del programa de análisis estadístico SAS (SAS Institute, 2001). Con las matrices se construyeron árboles de distancia que reflejaron las relaciones genéticas entre estas poblaciones bovinas, se utilizó el paquete Populations 1.2.28 (Olivier Langella, <http://www.cnrs-gif.fr/pge/bioinfo/populations/>), las que se graficaron con el programa Treeview (Page, 1996).

Se realizó un análisis de asignación individual utilizando el programa GeneClass V.2.0 de Cornuet (Cornuet y *col.*, 1999). Primero utilizando el criterio de computación de Rannala y Mountain (1997), que está diseñado para identificar individuos a través de genotipos multilocus, inmigrantes o ancestros inmigrantes. Se utilizó el algoritmo de simulación de Paetkau y *col.* (2004) simulando 10,000 animales por población. El siguiente criterio de computación utilizado fue el de Baudouin y Lebrun (2001) también con el algoritmo de simulación de Paetkau y *col.* (2004), simulando 10,000 animales por población. El tercer método es el basado en las frecuencias génicas y fue desarrollado por Paetkau y *col.* (1995)

Finalmente, se realizó un análisis de asignación de los individuos a su población con el programa Structure versión 2.1 (Pritchard y *col.*, 2000). Se utilizó un algoritmo bayesiano del programa de análisis Structure (Pritchard y *col.*, 2000), que emplea un modelo basado en método de cadenas Markov de Monte Carlo, que estima la distribución a posteriori de cada coeficiente de mezcla de cada individuo ( $q$ ). La media de esta distribución representa una estimación de la proporción que el genoma de un individuo tiene de las poblaciones parentales. El algoritmo supone que las poblaciones ancestrales están en equilibrio Hardy-Weinberg.

Con el programa Structure se realizaron dos análisis, el primero fue la asignación de los individuos a cluster, los cuales relacionan a los individuos más parecidos genéticamente y segundo, determinar el número real de poblaciones, desde el punto de vista genético.



# RESULTADOS

---

## ***Diversidad genética***

### **Número de alelos.**

Todos los *loci* resultaron polimórficos en todas las poblaciones. El número medio de alelos en los Criollos Mexicanos fue de 7.29 y en todas las poblaciones fue de 6.49  $\pm$ 1.73. Un total de 368 alelos se detectaron en los 761 animales analizados. De ellos, 49 fueron alelos exclusivos, que se detectaron solamente en una población, también llamados alelos privados o específicos. Las poblaciones con mayor cantidad de alelos privados fueron Brahman (5) y Nelore (6); la población criolla de Nayarit fue la única que no tuvo alelos privados. Solo el 12% de los alelos pertenecieron a las poblaciones Criollas Mexicanas y el 29% a las 9 poblaciones Criollas estudiadas.

Se detectaron en los Bovinos Criollos Mexicanos 310 alelos del total de 368. En el microsatélite que más alelos se detectaron en las poblaciones de Criollo Mexicano agrupadas fue en el *TGLA122* (17 alelos) y en el *BM1824* únicamente 7.

Por otra parte, los microsatélites *INRA32* e *INRA37* presentaron alelos exclusivos en 5 poblaciones cada uno; en el microsatélite *CRSM60* se detectaron 3 alelos exclusivos en la población Nelore. Únicamente los microsatélites *MM12*, *HEL9*, *ILSTS61*, *INRA63*, *TGLA227* e *ILSTS011* no mostraron alelos exclusivos a ninguna población.

### **Contenido de Información Polimórfica (PIC) y Heterocigosidad Observada.**

La Heterocigosidad Observada y el Contenido de Información Polimórfica (PIC) por *loci* y por población se presentan en la Tabla 6.

El rango de los valores de PIC fue de 0.368 a 0.871. El más bajo para el *INRA35* en la población de Criollo de Baja California y el más alto en el *TGLA53* del Criollo Poblano. En promedio el valor más bajo fue para el Criollo de Baja California (0.664) y el más alto en el Criollo de Chiapas (0.724).

Respecto a la Heterocigosidad Observada, el rango fue de 0.405 a 0.895; el valor más bajo en el microsatélite *INRA35* en la población de Baja California y el más alto en el *TGLA227* en la población de Criollo de Nayarit.

**Tabla 6. Contenido de Información Polimórfica (PIC) y Heterocigosidad Observada por loci y por población.**

Loci	CPO	CBC	CHU	CNY	CHI	<i>Pro</i>	CPO	CBC	CHU	CNY	CHI	<i>Pro</i>
	Contenido de Información Polimórfica						<i>Heterocigosidad Observada</i>					
<i>BM1314</i>	0.641	0.640	0.774	0.634	0.808	0.721	0.703	0.688	0.821	0.676	0.767	0.755
<i>BM1818</i>	0.601	0.606	0.531	0.671	0.708	0.669	0.665	0.683	0.617	0.736	0.847	0.721
<i>BM1824</i>	0.670	0.621	0.675	0.655	0.633	0.686	0.727	0.676	0.747	0.715	0.756	0.734
<i>BM2113</i>	0.748	0.707	0.796	0.827	0.748	0.799	0.783	0.772	0.849	0.863	0.879	0.824
<i>BM8125</i>	0.623	0.695	0.809	0.828	0.725	0.758	0.661	0.758	0.853	0.864	0.801	0.787
<i>CRSM60</i>	0.647	0.608	0.716	0.762	0.755	0.734	0.697	0.659	0.774	0.808	0.782	0.770
<i>CSSM66</i>	0.804	0.830	0.836	0.766	0.847	0.839	0.836	0.887	0.892	0.810	0.784	0.858
<i>ETH10</i>	0.754	0.708	0.806	0.790	0.755	0.793	0.794	0.764	0.849	0.829	0.868	0.818
<i>ETH185</i>	0.740	0.659	0.541	0.798	0.746	0.757	0.783	0.711	0.605	0.840	0.796	0.788
<i>ETH225</i>	0.754	0.677	0.786	0.719	0.795	0.766	0.795	0.739	0.835	0.775	0.799	0.799
<i>ETH3</i>	0.732	0.815	0.742	0.808	0.786	0.809	0.774	0.855	0.797	0.846	0.794	0.830
<i>HAUT24</i>	0.792	0.731	0.604	0.754	0.772	0.791	0.825	0.791	0.674	0.804	0.618	0.820
<i>HAUT27</i>	0.534	0.575	0.641	0.502	0.571	0.575	0.577	0.649	0.692	0.548	0.787	0.607
<i>HEL13</i>	0.595	0.594	0.517	0.510	0.737	0.633	0.630	0.650	0.563	0.545	0.881	0.662
<i>HEL9</i>	0.860	0.820	0.790	0.754	0.851	0.855	0.883	0.862	0.834	0.801	0.814	0.872
<i>ILSTS011</i>	0.654	0.674	0.637	0.628	0.721	0.693	0.715	0.741	0.712	0.686	0.673	0.740
<i>ILSTS006</i>	0.703	0.728	0.727	0.788	0.770	0.784	0.755	0.794	0.801	0.836	0.623	0.815
<i>INRA23</i>	0.586	0.380	0.588	0.709	0.599	0.625	0.633	0.426	0.662	0.758	0.781	0.668
<i>INRA32</i>	0.726	0.589	0.741	0.744	0.736	0.762	0.772	0.645	0.816	0.796	0.505	0.795
<i>INRA35</i>	0.518	<b>0.368</b>	0.492	0.414	0.585	0.509	0.578	<b>0.405</b>	0.549	0.444	0.783	0.546
<i>INRA37</i>	0.516	0.458	0.554	0.577	0.570	0.604	0.555	0.502	0.641	0.660	0.698	0.657
<i>INRA63</i>	0.674	0.590	0.636	0.696	0.729	0.779	0.725	0.663	0.704	0.753	0.834	0.808
<i>MM12</i>	0.764	0.773	0.781	0.784	0.737	0.796	0.802	0.822	0.831	0.828	0.828	0.824
<i>SPS115</i>	0.726	0.800	0.653	0.631	0.471	0.681	0.762	0.845	0.702	0.692	0.817	0.710
<i>TGLA122</i>	0.805	0.707	0.755	0.759	0.836	0.821	0.838	0.772	0.818	0.797	0.773	0.843
<i>TGLA227</i>	0.817	0.790	0.789	0.862	0.743	0.834	0.845	0.840	0.839	<b>0.895</b>	0.639	0.853
<i>TGLA53</i>	<b>0.871</b>	0.785	0.671	0.746	0.811	0.856	0.894	0.831	0.758	0.799	0.850	0.874
<b>Promedio</b>	0.698	0.664	0.688	0.708	0.724	0.738	0.741	0.720	0.749	0.756	0.769	0.770
<b>Desv.Est</b>	0.100	0.123	0.104	0.110	0.094	0.090	0.093	0.124	0.098	0.108	0.089	0.083

### Medidas de Variabilidad Genética en todas las poblaciones.

Las medidas de Heterocigosidad esperada, observada, total de alelos, número medio de alelos y Fis por población se muestran en la Tabla 7.

**Tabla 7. Heterocigosidad esperada, observada, total de alelos, número medio de alelos y Fis para todas las poblaciones**

Población	He	Ho	Total de alelos	Número medio alelos	Fis <sup>+</sup>
CBC	0.699	0.689	181	6.70	0.044
CHI	0.755	0.736	202	7.48	0.044
CHU	0.724	0.688	177	6.56	0.085
CNY	0.739	0.732	205	7.59	0.032
CPO	0.732	0.641	219	8.11	0.137 *
CAR	0.653	0.666	160	5.93	0.009
CCO	0.739	0.705	157	7.85	0.059
CPAT	0.611	0.580	136	5.04	0.066
CUR	0.657	0.646	146	5.41	0.028
HER	0.589	0.559	133	4.93	0.073
HOL	0.679	0.670	151	5.59	0.034
SPA	0.690	0.683	179	6.63	0.032
BCO	0.740	0.690	177	7.38	0.081 *
BNE	0.606	0.560	135	5.00	0.094 *
MAR	0.593	0.606	142	5.26	0.009
PAJ	0.706	0.683	181	7.24	0.046
CAN	0.696	0.666	190	7.04	0.055 *
PAL	0.566	0.591	137	5.07	-0.032
BRH	0.691	0.690	193	7.15	0.017
GYR	0.655	0.599	171	6.33	0.110 *
NEL	0.599	0.573	147	5.44	0.063
HOC	0.780	0.760	245	9.07	0.037

<sup>+</sup>Fis calculado en 1000 Bootstraps

\* Fis  $\neq$  0.0 (P<0.05)

La población que mostró mayor Heterocigosidad tanto esperada como observada entre los Criollos Mexicanos fue el de Chiapas con 0.755 y 0.736, respectivamente; y de todas las poblaciones fue la Holandocebú. Las poblaciones de referencia tanto taurinas (Holstein, Suizo Pardo y Hereford) como cebuinas, mostraron valores más bajos de Heterocigosidad.

Un criterio para evaluar la diversidad en una raza es el número de alelos, cuando el objetivo es conservar y mantener un grupo potencial de reserva para condiciones futuras. En cuanto al número total de alelos Holandocebú fue la más diversa con 245 y destacan los Criollos Poblano, Nayarit y Chiapas con 219, 205 y 202, respectivamente. Hereford, Berrenda en negro y Criollo Patagónico tuvieron la menor cantidad de alelos con 133, 135 y 136, respectivamente.

Respecto al Fis, que indica el acuerdo entre la heterocigosis esperada y observada, 5 poblaciones presentaron valores diferentes a cero después de 1000 Bootstraps, entre ellas el Criollo Poblano (P<0.05).

### Equilibrio Hardy-Weinberg

Las desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg fueron estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) en 4.05 *loci* por población en promedio (Tabla 8). El Criollo Poblano con 12 y la Berrenda en Negro con 11, fueron las poblaciones con más microsatélites desequilibrados. Las que tuvieron menos loci desequilibrados fueron la Holstein con uno y Hereford y Marismeña con dos.

Los microsatélites más desequilibrados fueron el *HAUT27* en 10 poblaciones y el *INRA35* en 9. Los menos desequilibrados fueron: *BM1314*, *BM1824* y *MM12* en una población solamente.

Tabla 8. . Equilibrio Hardy-Weinberg de los microsatélites por población

Loci	CBC.	CHI.	CHU	CNY	CPO	CAR	CCO	CPA	CUR	HER	HOL	SPA	BCO	BNE	MAR	PAJ	CAN	PAL	BRH	GYR	NEL	HOC	Total
BM1314					*																		1
BM1818				*										*									2
BM1824																					*		1
BM2113		*										*		*		*					*		5
BM8125					*	*						*											3
CRSM60														*	*			*			*		4
CSSM66														*		*							2
ETH10	*												*										2
ETH185			*		*													*		*	*	*	6
ETH225			*																*				2
ETH3					*	*		*						*			*						5
HAUT24			*	*										*					*	*		*	6
HAUT27	*	*					*		*	*	*			*		*	*			*			10
HEL13		*				*																	2
HEL9					*								*	*							*		4
ILSTS011						*													*				2
ILSTS6		*			*			*												*		*	5
INRA23					*			*				*							*				4
INRA32			*																	*	*		3
INRA35				*	*			*	*			*		*	*	*				*			9
INRA37					*	*	*			*		*	*				*			*			8
INRA63	*				*		*					*											4
MM12							*																1
SPS115	*				*									*						*			4
TGLA122		*	*	*																*		*	5
TGLA227		*							*			*		*									4
TGLA53			*		*			*	*									*	*				6
	4	6	6	4	12	5	4	5	4	2	1	6	4	11	2	4	3	3	5	9	6	4	

\* Marcador en desequilibrio (P&lt;0.05)

### **Estadísticos F en los Criollos Mexicanos**

Los valores de los estadísticos F para los 27 microsatélites en las 5 poblaciones se muestran en la Tabla 9. El rango obtenido para el estadístico Fis estuvo de -0.079 a 0.224, para Fit de -0.074 a 0.243 y para Fst de 0.002 a 0.120. El método de Belkhir (2003) en el programa Genetix considera también las variaciones sobre ajuste por remuestreo según el método denominado Jackknife sobre los locus y sobre las poblaciones. Esto permite obtener un intervalo de confianza en torno a las estimaciones de cada parámetro. Los valores promedio fueron: Fis= 0.076 (0.050 - 0.101), Fit= 0.107 (0.079 - 0.133) y Fst= 0.033 (0.024 - 0.043). El rango de los valores de Fis estuvo entre -0.079 (*ETH225*) y 0.224 (*HAUT27*), el de Fit entre -0.074 (*ETH225*) y 0.243 (*INRA37*) y el de Fst entre 0.002 (*HAUT27*) y 0.120 (*INRA37* e *INRA63*)

### **Estadísticos F en todas las poblaciones.**

Los valores de los estadísticos F para los 27 microsatélites en las 22 poblaciones se presentan en la Tabla 10. Los valores promedio fueron: Fis= 0.045 (0.029 - 0.063), Fit= 0.165 (0.148 - 0.184) y Fst= 0.125 (0.114 - 0.136), en los tres casos son valores superiores a cero ( $P < 0.05$ ). El rango de los valores de Fis estuvo entre -0.039 (*BM8125*) y 0.195 (*INRA35*), el de Fit entre 0.093 (*BM1824*) y 0.289 (*INRA35*) y el de Fst entre 0.070 (*TGLA122*) y 0.184 (*ILSTS011*). Los valores extremos se obtuvieron en diferentes microsatélites cuando se consideraron todas las poblaciones



**Tabla 9. Resultados de los estadísticos F por locus en las poblaciones Criollas Mexicanas**

<b>Microsatélite</b>	<b>Fis</b>	<b>Fit</b>	<b>Fst</b>
<i>BM1314</i>	0.217	0.234	0.022
<i>BM1818</i>	0.123	0.165	0.048
<i>BM1824</i>	0.029	0.064	0.035
<i>BM2113</i>	0.068	0.090	0.023
<i>BM8125</i>	0.035	0.074	0.040
<i>CRSM60</i>	0.020	0.061	0.042
<i>CSSM66</i>	0.011	0.021	0.010
<i>ETH10</i>	0.036	0.055	0.020
<i>ETH185</i>	0.182	0.210	0.034
<i>ETH225</i>	-0.079	-0.074	0.005
<i>ETH3</i>	0.070	0.092	0.023
<i>HAUT24</i>	0.046	0.073	0.028
<i>HAUT27</i>	0.224	0.225	0.002
<i>HEL13</i>	0.032	0.068	0.037
<i>HEL9</i>	0.081	0.097	0.017
<i>ILSTS011</i>	-0.016	0.007	0.023
<i>ILSTS006</i>	0.094	0.125	0.034
<i>INRA23</i>	0.169	0.201	0.039
<i>INRA32</i>	0.102	0.137	0.039
<i>INRA35</i>	0.200	0.213	0.017
<i>INRA37</i>	0.140	0.243	0.120
<i>INRA63</i>	0.039	0.154	0.120
<i>MM12</i>	0.019	0.040	0.021
<i>SPS115</i>	0.037	0.058	0.022
<i>TGLA122</i>	0.138	0.158	0.023
<i>TGLA227</i>	0.113	0.130	0.019
<i>TGLA53</i>	0.027	0.067	0.041
<b>Media</b>	<b>0.076</b>	<b>0.107</b>	<b>0.033</b>
De	0.014	0.014	0.005

**Tabla 10. . Resultados de los estadísticos F por locus en todas las poblaciones**

Microsatélite	N poblaciones	Fis	Fit	Fst
<i>BM1314</i>	22	0.079	0.198	0.129
<i>BM1818</i>	22	0.023	0.137	0.117
<i>BM1824</i>	22	-0.006	0.093	0.099
<i>BM2113</i>	21	0.064	0.192	0.137
<i>BM8125</i>	19	-0.039	0.099	0.133
<i>CRSM60</i>	22	0.014	0.115	0.102
<i>CSSM66</i>	22	0.035	0.124	0.092
<i>ETH10</i>	22	-0.010	0.158	0.167
<i>ETH185</i>	21	0.111	0.244	0.149
<i>ETH225</i>	21	-0.005	0.145	0.149
<i>ETH3</i>	21	0.052	0.156	0.109
<i>HAUT24</i>	22	0.091	0.197	0.117
<i>HAUT27</i>	22	0.163	0.232	0.082
<i>HEL13</i>	22	0.043	0.214	0.179
<i>HEL9</i>	22	0.012	0.105	0.095
<i>ILSTS011</i>	19	-0.018	0.169	0.184
<i>ILSTS006</i>	22	0.077	0.185	0.117
<i>INRA23</i>	21	0.069	0.156	0.094
<i>INRA32</i>	22	0.033	0.171	0.143
<i>INRA35</i>	21	0.195	0.289	0.117
<i>INRA37</i>	22	0.113	0.265	0.171
<i>INRA63</i>	22	0.005	0.152	0.148
<i>MM12</i>	22	-0.024	0.115	0.135
<i>SPS115</i>	22	0.042	0.139	0.101
<i>TGLA122</i>	22	0.049	0.115	0.070
<i>TGLA227</i>	22	0.046	0.191	0.152
<i>TGLA53</i>	22	0.050	0.142	0.097
<b>Media</b>		0.045	0.165	0.125
De		0.010	0.009	0.006

**Cuello de Botella de las poblaciones Criollas Mexicanas.**

Los resultados en el análisis para detectar cuello de botella se muestran en la Tabla 11. Se observa que las pruebas realizadas no son consistentes. El caso del Criollo Poblano, presenta un Fis alto por lo que se descarta que en las generaciones recientes haya habido algún cuello de botella, debido a que no hubo exceso de heterocigotos. Las poblaciones de Chiapas y Chihuahua, son las únicas que no dieron positivo en alguna de las pruebas. El Criollo de Baja California, es el único que resultó positivo en dos de las pruebas. La prueba que tiene mayor poder es la de Wilcoxon (Piry y col., 1999) y es la única consistente en este estudio, donde se demuestra que no ha existido recientemente cuello de botella en las poblaciones criollas de México

**Tabla 11. Evaluación de cuello de botella bajo el modelo T.P.M en las poblaciones Criollas Mexicanas**

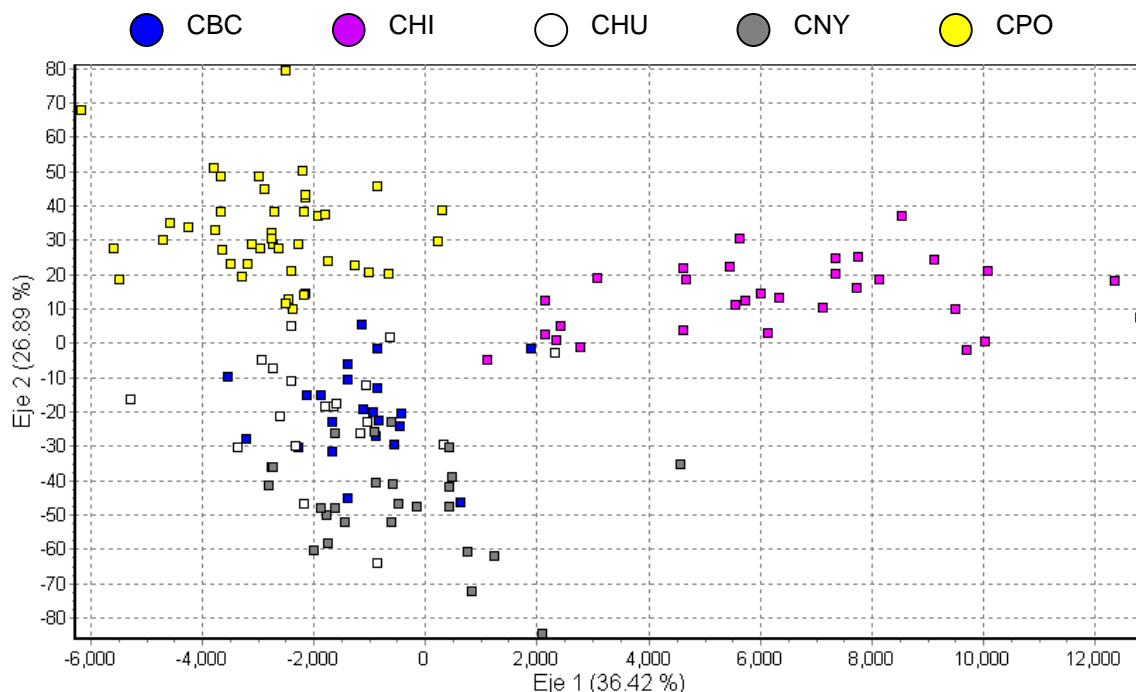
Población	Prueba de signos	Diferencias Estandarizadas	Rangos de Wilcoxon
C. Poblano	-	+	-
C. B. California	+	+	-
C. Chihuahua	-	-	-
C. Nayarit	-	+	-
C. Chiapas	-	-	-

No significativo  
+P < 0.05

### ***Diferenciación genética de las poblaciones***

#### **Análisis Factorial de Correspondencia.**

En la Figura 4 se presenta la dispersión detectada por el análisis de correspondencia de las poblaciones Criollas Mexicanas. Se aprecia que las poblaciones de Criollo Poblano (cuadrante superior izquierdo) y de Chiapas (Cuadrantes superior e inferior derechos), se separan de las otras tres. El eje 1 explica el 36.4% de la varianza y el Eje 2 el 26.9% que en conjunto explican el 63%.



**Figura 4. Análisis de Correspondencia de las poblaciones Criollas Mexicanas**

En la Figura 5 se presentan los resultados del Análisis Factorial de Correspondencia de todas las poblaciones. Aquí destaca el agrupamiento de las poblaciones cebuinas

muy a la izquierda de las demás poblaciones. En la parte central, la población de Holandocebú y los Criollos de Chiapas y Colombiano, que probablemente estén cruzadas entre *Bos taurus* y de *Bos indicus*. Cercanas a ellas, pero en el cuadrante inferior derecho las demás Criollas Mexicanas. Otras agrupaciones se corresponden con las poblaciones de las Islas Canarias y la Hereford con el Criollo Argentino. Finalmente se agrupan todas las demás razas, españolas y Criollas sudamericanas. Con objeto de detectar mejor las agrupaciones, se hizo otro análisis sin incluir las razas cebuinas, el resultado se presenta en la Figura 6. En éste análisis se aprecia que en el cuadrante superior derecho se siguen agrupando Holandocebú, Criollo Colombiano y Chiapas. Un poco mas al centro en ese mismo cuadrante las otras 4 poblaciones de Criollo Mexicano. Casi en el centro del gráfico se agrupan tres de las españolas a excepción de la Berrenda en Negro que se coloca junto al Criollo Patagónico y las exóticas Holstein y Suizo Pardo. Un poco más abajo el Criollo Uruguayo y más abajo el Hereford. En el cuadrante inferior izquierdo únicamente se ubica el Criollo Argentino; En el cuadrante superior derecho, la Canaria y lejos a la derecha la Palmera

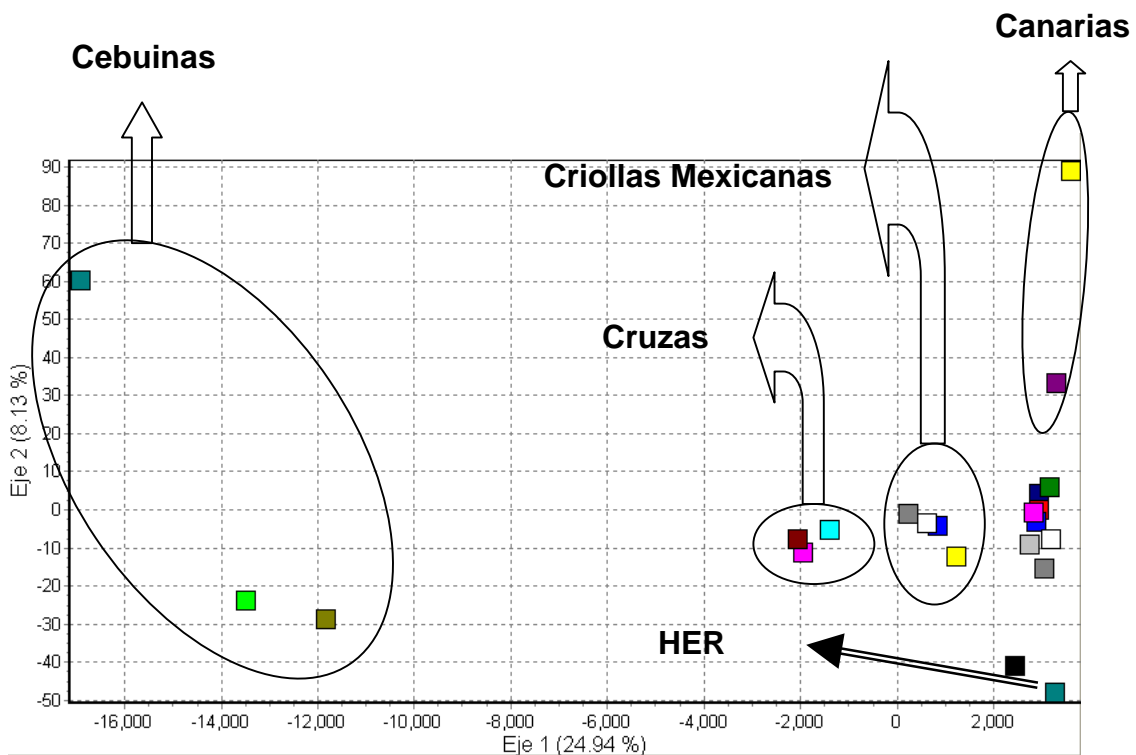
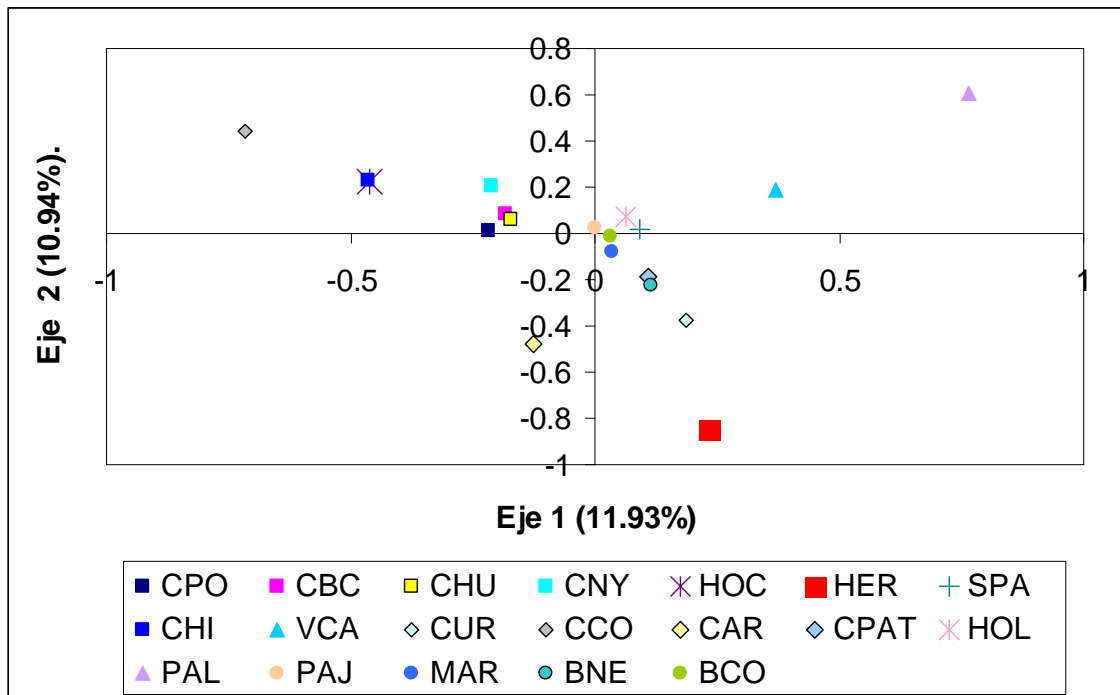


Figura 5 Análisis Factorial de Correspondencia de todas las poblaciones



**Figura 6. Análisis de Correspondencia de la poblaciones *Bos taurus***

### **Diferenciación Genética entre las Poblaciones Criollas Mexicanas.**

Los resultados del AMOVA nos muestran que el promedio de la proporción de la variabilidad genética explicada por la diferencia entre poblaciones fue de 3.3%, aproximadamente. La partición de la variabilidad genética hipotetizando un estructura en la población (Geográfica o por Cluster filogenético) se muestra en la Tabla 12. El  $F_{st}$  de 0.035 indica una diferenciación genética muy baja. La más alta diferenciación entre grupos se obtuvo con la hipótesis de las poblaciones divididas por cluster filogenético (1.43%) aunque prácticamente no es diferente de cero ( $P > 0.053$ ), pues la probabilidad de encontrar un valor aleatorio mayor al valor observado es muy baja, lo que indica que con este análisis no se detecta una estructura clara entre los Criollos Mexicanos pues la variación entre las poblaciones dentro del grupo es mayor que la diferencia entre grupos. El resultado de la estructura geográfica es muy parecido.

**Tabla 12. Partición de la Variabilidad Genética de acuerdo a diferentes grupos de estructura**

Estructura <sup>1</sup>	Fuente de Variación	Variación (%)	Índices de Fijación	
NO estructura	Entre Poblaciones	3.50	Fst = 0.035	P > 0.0001
	Dentro de Poblaciones	96.50		
Cluster filogenético	Entre Grupos	1.43	Fct = 0.014	P > 0.053
	Entre poblaciones dentro de grupo	2.13	Fsc = 0.036	P > 0.0001
	Dentro de Poblaciones	96.44		
Geográfica	Entre Grupos	1.06	Fct = 0.011	P > 0.063
	Entre poblaciones dentro de grupo	2.63	Fsc = 0.026	P > 0.0001
	Dentro de Poblaciones	96.31		

<sup>1</sup>Los grupos formados fueron: Cluster filogenético: (C. de Chihuahua, C de Baja California); (C. de Chiapas); (C. de Nayarit) y (C. Poblano). Geográfico: (C. de Chiapas); (C. Poblano); (C. de Nayarit, C. de Chihuahua y C. de Baja California).

### **Diferenciación Genética entre las Poblaciones Criollas Mexicanas y las demás.**

Con el fin de cuantificar el grado de diferenciación genética entre grupos de poblaciones, se realizó un AMOVA contrastando las 5 poblaciones Criollas Mexicanas contra cada uno de los grupos de poblaciones descritas a continuación: Cebú (Brahman, Gyr y Nelore), poblaciones de las Islas Canarias (Canaria y Palmera); poblaciones españolas (Marismeña, Pajuna, Berrenda en Negro y Berrenda en Colorado); como exóticas las razas Holstein, Suizo Pardo y Hereford; y finalmente se agruparon las Criollas Sudamericanas (Criollo Argentino, Colombiano, Patagónico y Uruguayo). En la Tabla 13 se aprecia que la mayor diferenciación genética de los Criollos Mexicanos se obtiene con las razas cebuinas ( $P < 0.01$ ), seguido de las razas canarias y consiguiéndose la mayor similitud con los Criollos sudamericanos ( $P < 0.01$ ).

**Tabla 13. Variación Genética entre Grupos y entre poblaciones dentro de grupo**

Grupo	Fuente de Variación	Variación (%)	Probabilidad
<b>Cebú</b>	Entre Grupos	10.83	P< 0.01
	Entre Poblaciones dentro de grupo	4.76	
<b>Canarias</b>	Entre Grupos s	3.59	P< 0.01
	Entre Poblaciones dentro de grupo	5.57	
<b>Españolas</b>	Entre Grupos	1.13	P< 0.01
	Entre Poblaciones dentro de grupo	6.57	
<b>Exóticas</b>	Entre Grupos	1.51	P< 0.01
	Entre Poblaciones dentro de grupo	6.54	
<b>Criollas Sudamericanas</b>	Entre Grupos	0.97	P< 0.01
	Entre Poblaciones dentro de grupo	7.57	

### ***Distancias Genéticas.***

Se calcularon las distancias genéticas  $D_S$  (Nei, 1972),  $D_A$  de Nei et al. (1983), de Reynolds (1983) y Cavalli Sforza y Edwards (1967). Las dos primeras se presentan en la Tabla 14 y la de Reynolds y Cavalli Sforza en la Tabla 15. El  $F_{st}$  por poblaciones pareadas y el número de migrantes se presentan en la Tabla 16.

Utilizando la  $D_A$  de Nei, cabe resaltar que las poblaciones más distantes a las Criollas Mexicanas son las cebuinas como era de esperarse, sin embargo, el Criollo de Chiapas presenta una distancia similar con el Gyr y Brahman y el Criollo de Baja California y la menor distancia la presenta con el Holandocebú. Por otra parte, aun cuando la mayor distancia genética de las poblaciones criollas se da con las cebuinas, es mayor aun, dentro de estas, a la raza Nelore, cuyas muestras se obtuvieron de Brasil. La menor distancia con este método es entre los Criollos Poblano y de Chihuahua.

Respecto a la  $D_S$ , destaca que la mayor distancia de los Criollos Mexicanos, después de las razas cebuinas, se da con la raza Hereford. La menor distancia es entre los Criollos Poblano y de Chihuahua aunque es mayor que la obtenida entre Pajuna y Berrenda en Colorado.

En los resultados de la distancia de Reynolds, en referencia a los Criollos, la menor distancia entre el Criollo de Chiapas es con Holandocebú. Sin embargo es mayor que la calculada entre Pajuna y Berrenda en colorado, igual que como se hizo mención en las distancias anteriores.

La distancia de Cavalli Sforza y Edwards muestra también algunas particularidades, como es el caso de que se obtiene una distancia similar entre el Criollo de Baja California con el Criollo Poblano y el Criollo de Chiapas con Holandocebú. Además, el Criollo Poblano presenta una menor distancia con la Berrenda en Colorado, que con cualquier otra de las poblaciones Criollas Mexicanas.

En referencia al número de migrantes, entendido como el número de individuos migrantes que son necesarios para modificar las frecuencias génicas de la población a

donde migran, se aprecia que se requiere un bajo número de migrantes cebuinos ( $< 1.95$ ) para modificar las frecuencias génicas de las poblaciones criollas; una situación similar sucede con la raza Hereford. En el caso de la Pajuna con la Berrenda en Colorado se requieren cerca de 18 individuos para modificar las frecuencias. En el caso de los Criollos el de Nayarit y el de Chihuahua requieren cerca de 13 migrantes. Entre las 5 poblaciones de Criollo Mexicano se requieren de 4.61 a 13.07 migrantes para modificar las frecuencias génicas

El  $F_{st}$  por pares de poblaciones dio algunos resultados interesantes. La diferenciación genética detectada entre las poblaciones criollas es muy baja similar a la que se encontró entre las poblaciones criollas y el Pardo Suizo. En el caso del Criollo Colombiano se obtuvieron valores negativos con todas las poblaciones Criollas Mexicanas.

Por la similitud de los resultados obtenidos con las distintas distancias genéticas, se realizó un análisis de correlación (Tabla 17) donde se aprecia con mayor claridad que las distancia  $D_A$ ,  $D_S$  y Cavalli Sforza tienen un valor alto ( $> 0.97$ ). Con los valores de  $F_{st}$  la correlación fue menor en un rango de 0.827 a 0.914 y la correlación del número de migrantes fue negativa con todas las demás (de -0.618 a -0.725), como es lógico suponer, puesto que a mayor similitud genética el número de migrantes es mayor.



**Tabla 14. Distancia de Nei  $D_A$  (arriba de la diagonal) y Distancia estándar de Nei  $D_S$  debajo de la diagonal).**

	CBC	CHI	CHU	CNY	CPO	CAR	CCO	CPAT	CUR	HER	HOL	SPA	BCO	BNE	MAR	PAJ	CAN	PAL	BRH	GYR	NEL	HOC
<b>CBC</b>	-	0.148	0.121	0.123	0.114	0.181	0.166	0.212	0.215	0.278	0.210	0.201	0.139	0.266	0.207	0.147	0.186	0.254	0.320	0.386	0.432	0.150
<b>CHI</b>	0.240	-	0.162	0.135	0.132	0.196	0.148	0.244	0.236	0.288	0.222	0.202	0.170	0.272	0.247	0.182	0.199	0.271	0.245	0.274	0.345	0.120
<b>CHU</b>	0.149	0.222	-	0.112	0.100	0.177	0.175	0.218	0.226	0.279	0.225	0.184	0.139	0.225	0.210	0.154	0.177	0.257	0.320	0.368	0.401	0.154
<b>CNY</b>	0.176	0.198	0.147	-	0.105	0.185	0.147	0.213	0.218	0.285	0.203	0.188	0.129	0.247	0.194	0.128	0.167	0.242	0.292	0.341	0.406	0.127
<b>CPO</b>	0.138	0.204	0.137	0.153	-	0.155	0.144	0.185	0.201	0.250	0.192	0.160	0.110	0.220	0.196	0.113	0.154	0.249	0.309	0.356	0.419	0.126
<b>CAR</b>	0.268	0.303	0.266	0.280	0.246	-	0.196	0.164	0.165	0.250	0.233	0.200	0.145	0.228	0.228	0.145	0.205	0.313	0.399	0.448	0.510	0.198
<b>CCO</b>	0.225	0.243	0.237	0.197	0.185	0.296	-	0.204	0.258	0.324	0.245	0.223	0.163	0.274	0.232	0.169	0.218	0.304	0.259	0.325	0.350	0.136
<b>CPAT</b>	0.307	0.347	0.323	0.306	0.260	0.279	0.289	-	0.179	0.292	0.199	0.215	0.172	0.249	0.253	0.166	0.193	0.256	0.453	0.516	0.531	0.221
<b>CUR</b>	0.332	0.320	0.332	0.334	0.293	0.276	0.430	0.302	-	0.282	0.224	0.252	0.179	0.264	0.277	0.191	0.202	0.265	0.434	0.517	0.545	0.216
<b>HER</b>	0.447	0.477	0.430	0.460	0.367	0.414	0.506	0.498	0.461	-	0.284	0.267	0.251	0.325	0.266	0.265	0.254	0.373	0.468	0.543	0.578	0.281
<b>HOL</b>	0.294	0.303	0.299	0.266	0.231	0.388	0.330	0.289	0.323	0.485	-	0.182	0.150	0.271	0.233	0.143	0.153	0.262	0.436	0.536	0.574	0.152
<b>SPA</b>	0.249	0.296	0.267	0.250	0.219	0.316	0.318	0.297	0.395	0.450	0.229	-	0.140	0.234	0.214	0.152	0.161	0.245	0.407	0.473	0.515	0.181
<b>BCO</b>	0.186	0.227	0.177	0.167	0.154	0.231	0.173	0.227	0.236	0.404	0.189	0.183	-	0.194	0.156	0.066	0.117	0.214	0.382	0.454	0.497	0.150
<b>BNE</b>	0.428	0.350	0.323	0.396	0.306	0.329	0.411	0.394	0.443	0.530	0.401	0.330	0.306	-	0.272	0.196	0.221	0.304	0.444	0.526	0.571	0.261
<b>MAR</b>	0.304	0.382	0.301	0.283	0.277	0.401	0.269	0.433	0.511	0.469	0.372	0.318	0.214	0.476	-	0.160	0.203	0.290	0.463	0.505	0.537	0.232
<b>PAJ</b>	0.194	0.271	0.192	0.188	0.148	0.273	0.210	0.229	0.293	0.471	0.185	0.186	0.073	0.329	0.236	-	0.127	0.219	0.386	0.450	0.507	0.146
<b>CAN</b>	0.262	0.272	0.251	0.231	0.194	0.343	0.275	0.267	0.304	0.441	0.207	0.226	0.126	0.361	0.309	0.156	-	0.164	0.399	0.485	0.518	0.168
<b>PAL</b>	0.351	0.403	0.360	0.322	0.340	0.546	0.458	0.354	0.412	0.551	0.403	0.348	0.304	0.512	0.491	0.327	0.252	-	0.495	0.545	0.578	0.270
<b>BRH</b>	0.613	0.423	0.591	0.529	0.589	0.738	0.471	0.803	0.710	0.831	0.831	0.792	0.709	0.816	0.807	0.738	0.682	0.968	-	0.153	0.206	0.209
<b>GYR</b>	0.758	0.449	0.718	0.648	0.726	0.912	0.575	1.029	0.999	1.023	1.149	1.004	0.925	0.971	0.971	0.928	0.945	1.118	0.178	-	0.219	0.273
<b>NEL</b>	0.873	0.604	0.767	0.785	0.832	1.041	0.585	1.012	0.971	1.092	1.181	1.042	0.921	1.126	0.981	0.947	0.989	1.172	0.253	0.283	-	0.352
<b>HOC</b>	0.202	0.176	0.197	0.194	0.170	0.291	0.173	0.273	0.276	0.405	0.169	0.222	0.182	0.347	0.327	0.182	0.205	0.405	0.357	0.517	0.645	-

**Tabla 15. Distancia de Reynolds (arriba de la diagonal) y Cavalli-Sforza y Edwards (debajo de la diagonal)**

	<b>CBC</b>	<b>CHI</b>	<b>CHU</b>	<b>CNY</b>	<b>CPO</b>	<b>CAR</b>	<b>CCO</b>	<b>CPAT</b>	<b>CUR</b>	<b>HER</b>	<b>HOL</b>	<b>SPA</b>	<b>BCO</b>	<b>BNE</b>	<b>MAR</b>	<b>PAJ</b>	<b>CAN</b>	<b>PAL</b>	<b>BRH</b>	<b>GYR</b>	<b>NEL</b>	<b>HOC</b>
<b>CBC</b>	-	0.057	0.030	0.039	0.032	0.091	0.057	0.116	0.111	0.165	0.088	0.073	0.044	0.155	0.124	0.054	0.078	0.153	0.165	0.207	0.258	0.047
<b>CHI</b>	0.336	-	0.046	0.040	0.048	0.096	0.056	0.121	0.099	0.158	0.083	0.079	0.051	0.122	0.140	0.071	0.074	0.159	0.111	0.127	0.185	0.034
<b>CHU</b>	0.305	0.347	-	0.025	0.028	0.086	0.054	0.117	0.105	0.153	0.084	0.072	0.038	0.117	0.118	0.049	0.069	0.151	0.151	0.189	0.228	0.039
<b>CNY</b>	0.308	0.318	0.292	-	0.034	0.090	0.044	0.111	0.105	0.158	0.074	0.068	0.036	0.137	0.112	0.048	0.064	0.137	0.136	0.172	0.225	0.039
<b>CPO</b>	0.291	0.310	0.269	0.282	-	0.084	0.045	0.098	0.097	0.134	0.068	0.063	0.037	0.113	0.111	0.040	0.057	0.143	0.153	0.190	0.235	0.039
<b>CAR</b>	0.362	0.388	0.366	0.377	0.331	-	0.098	0.120	0.108	0.171	0.136	0.112	0.080	0.139	0.171	0.097	0.120	0.229	0.216	0.261	0.311	0.091
<b>CCO</b>	0.357	0.329	0.361	0.328	0.327	0.390	-	0.102	0.126	0.167	0.091	0.088	0.039	0.143	0.102	0.055	0.070	0.179	0.123	0.158	0.183	0.036
<b>CPAT</b>	0.394	0.437	0.402	0.400	0.372	0.347	0.397	-	0.128	0.215	0.116	0.117	0.084	0.176	0.196	0.090	0.106	0.178	0.246	0.303	0.332	0.098
<b>CUR</b>	0.400	0.429	0.417	0.412	0.389	0.347	0.447	0.361	-	0.185	0.115	0.134	0.076	0.176	0.204	0.099	0.107	0.185	0.208	0.272	0.297	0.086
<b>HER</b>	0.453	0.472	0.461	0.468	0.432	0.426	0.497	0.458	0.457	-	0.183	0.169	0.137	0.227	0.214	0.170	0.165	0.256	0.257	0.310	0.356	0.135
<b>HOL</b>	0.399	0.413	0.410	0.393	0.382	0.416	0.432	0.383	0.405	0.456	-	0.073	0.054	0.154	0.153	0.056	0.067	0.176	0.215	0.276	0.314	0.046
<b>SPA</b>	0.395	0.396	0.375	0.379	0.347	0.393	0.414	0.399	0.437	0.448	0.364	-	0.049	0.129	0.132	0.056	0.072	0.154	0.204	0.252	0.289	0.059
<b>BCO</b>	0.327	0.362	0.322	0.313	0.287	0.331	0.354	0.354	0.373	0.437	0.336	0.324	-	0.110	0.088	0.015	0.032	0.128	0.170	0.215	0.241	0.039
<b>BNE</b>	0.452	0.456	0.414	0.440	0.408	0.408	0.462	0.414	0.442	0.495	0.447	0.417	0.384	-	0.212	0.125	0.138	0.237	0.250	0.295	0.352	0.117
<b>MAR</b>	0.391	0.430	0.392	0.383	0.381	0.412	0.417	0.437	0.458	0.439	0.413	0.395	0.344	0.458	-	0.099	0.128	0.236	0.258	0.306	0.339	0.120
<b>PAJ</b>	0.338	0.372	0.342	0.310	0.290	0.337	0.358	0.351	0.381	0.448	0.329	0.336	0.220	0.381	0.350	-	0.046	0.142	0.188	0.232	0.264	0.046
<b>CAN</b>	0.377	0.389	0.369	0.361	0.343	0.393	0.412	0.381	0.393	0.440	0.333	0.352	0.295	0.410	0.388	0.311	-	0.117	0.185	0.242	0.277	0.056
<b>PAL</b>	0.446	0.454	0.440	0.432	0.439	0.486	0.488	0.440	0.439	0.528	0.438	0.427	0.397	0.480	0.454	0.406	0.352	-	0.304	0.348	0.389	0.154
<b>BRH</b>	0.499	0.435	0.492	0.478	0.486	0.545	0.453	0.589	0.576	0.600	0.579	0.562	0.544	0.583	0.591	0.549	0.557	0.621	-	0.061	0.103	0.093
<b>GYR</b>	0.546	0.458	0.525	0.514	0.522	0.581	0.504	0.631	0.634	0.645	0.645	0.607	0.593	0.635	0.615	0.589	0.616	0.649	0.340	-	0.120	0.136
<b>NEL</b>	0.583	0.518	0.557	0.562	0.571	0.626	0.521	0.638	0.647	0.670	0.672	0.634	0.620	0.664	0.641	0.628	0.636	0.672	0.389	0.400	-	0.183
<b>HOC</b>	0.339	0.298	0.340	0.313	0.308	0.388	0.319	0.414	0.407	0.465	0.341	0.375	0.343	0.451	0.423	0.335	0.362	0.459	0.400	0.459	0.526	-

**Tabla 16. Número de migrantes (arriba de la diagonal) y Fst por poblaciones pareadas (debajo de la diagonal).**

	CBC	CHI	CHU	CNY	CPO	CAR	CCO	CPAT	CUR	HER	HOL	SPA	BCO	BNE	MAR	PAJ	CAN	PAL	BRH	GYR	NEL	HOC
<b>CBC</b>	-	4.61	11.90	6.98	9.03	2.69	4.65	2.10	2.21	1.45	2.87	3.64	6.06	1.53	1.94	4.84	3.25	1.53	1.43	1.14	0.87	5.68
<b>CHI</b>	0.045	-	6.21	6.48	5.41	2.51	4.52	1.97	2.44	1.50	3.01	3.25	4.97	1.98	1.68	3.51	3.32	1.45	2.18	1.95	1.25	7.72
<b>CHU</b>	0.012	0.021	-	13.07	12.37	2.93	5.14	2.12	2.39	1.59	3.15	3.78	7.75	2.13	2.06	5.72	3.82	1.56	1.60	1.28	1.00	7.40
<b>CNY</b>	0.013	0.035	-0.008	-	7.95	2.67	5.81	2.17	2.30	1.50	3.41	3.82	7.16	1.74	2.14	5.24	3.91	1.71	1.74	1.39	1.00	6.62
<b>CPO</b>	0.010	0.046	-0.009	0.026	-	2.90	5.60	2.47	2.50	1.80	3.70	4.14	7.01	2.16	2.16	6.35	4.34	1.64	1.53	1.24	0.96	6.57
<b>CAR</b>	0.062	0.086	0.047	0.076	0.077	-	2.44	1.97	2.19	1.35	1.73	2.16	3.05	1.69	1.34	2.46	1.96	0.97	1.04	0.85	0.69	2.64
<b>CCO</b>	-0.088	-0.066	-0.114	-0.095	-0.082	-0.026	-	2.36	1.87	1.41	2.71	2.87	6.51	1.66	2.35	4.54	3.50	1.27	1.94	1.52	1.26	7.04
<b>CPAT</b>	0.094	0.120	0.084	0.104	0.100	0.116	0.001	-	1.85	1.06	2.08	2.07	2.90	1.32	1.16	2.71	2.25	1.29	0.90	0.72	0.64	2.47
<b>CUR</b>	0.081	0.084	0.067	0.087	0.084	0.093	0.001	0.120	-	1.25	2.10	1.78	3.21	1.32	1.11	2.42	2.22	1.22	1.09	0.81	0.73	2.83
<b>HER</b>	0.136	0.150	0.126	0.144	0.122	0.135	0.058	0.197	0.156	-	1.27	1.39	1.75	1.00	1.06	1.38	1.42	0.86	0.86	0.70	0.59	1.78
<b>HOL</b>	0.058	0.066	0.042	0.059	0.058	0.118	-0.049	0.108	0.098	0.171	-	3.56	4.76	1.53	1.53	4.51	3.73	1.30	1.06	0.81	0.69	5.63
<b>SPA</b>	0.037	0.064	0.056	0.034	0.025	0.072	-0.073	0.089	0.092	0.155	0.023	-	5.42	1.89	1.80	4.70	3.54	1.51	1.12	0.90	0.75	4.48
<b>BCO</b>	0.015	0.027	-0.013	0.010	0.018	0.053	-0.108	0.067	0.058	0.106	0.016	-0.009	-	2.21	2.76	17.82	8.03	1.84	1.36	1.08	0.93	6.43
<b>BNE</b>	0.134	0.108	0.089	0.115	0.099	0.128	0.017	0.165	0.164	0.195	0.129	0.111	0.068	-	1.07	1.92	1.72	0.94	0.89	0.75	0.60	2.05
<b>MAR</b>	0.095	0.128	0.087	0.099	0.096	0.150	-	0.176	0.176	0.183	0.135	0.098	0.064	0.172	-	2.41	1.84	0.94	0.85	0.71	0.62	1.97
<b>PAJ</b>	0.024	0.062	0.003	0.043	0.040	0.086	-0.064	0.083	0.088	0.145	0.042	0.008	-0.009	0.098	0.090	-	5.44	1.64	1.22	0.98	0.84	5.40
<b>CAN</b>	0.043	0.056	0.016	0.046	0.051	0.108	-0.044	0.103	0.088	0.138	0.055	0.016	0.012	0.110	0.107	0.043	-	2.02	1.24	0.94	0.79	4.43
<b>PAL</b>	0.129	0.153	0.111	0.135	0.133	0.195	0.063	0.158	0.154	0.227	0.160	0.123	0.103	0.195	0.201	0.129	0.097	-	0.70	0.60	0.53	1.50
<b>BRH</b>	0.147	0.103	0.120	0.124	0.144	0.195	0.004	0.228	0.180	0.227	0.192	0.170	0.142	0.220	0.228	0.172	0.170	0.266	-	4.32	2.36	2.61
<b>GYR</b>	0.176	0.094	0.159	0.120	0.136	0.193	0.023	0.241	0.202	0.256	0.208	0.214	0.135	0.238	0.235	0.165	0.163	0.269	0.018	-	2.05	1.80
<b>NEL</b>	0.223	0.169	0.189	0.197	0.204	0.255	0.085	0.279	0.243	0.294	0.263	0.232	0.201	0.281	0.282	0.233	0.228	0.319	0.084	0.101	-	1.26
<b>HOC</b>	0.013	0.020	-0.013	0.029	0.035	0.086	-0.097	0.096	0.071	0.118	0.035	0.010	0.018	0.097	0.106	0.044	0.052	0.142	0.084	0.066	0.151	-

**Tabla 17. Análisis de Correlación entre las distancias genéticas  $D_A$ ,  $D_S$ , Cavalli Sforza, Reynolds, Fst para poblaciones pareadas y Número de migrantes**

	$D_S$	$D_A$	Cavalli Sforza	Reynolds	Fst	N de migrantes
$D_S$	1					
$D_A$	0.987	1				
Cavalli Sforza	0.975	0.993	1			
Reynolds	0.942	0.952	0.946	1		
Fst	0.827	0.834	0.830	0.914	1	
N de migrantes	-0.618	-0.656	-0.713	-0.725	-0.693	1

## Árboles Filogenéticos

A partir de las distancias genéticas se construyeron árboles filogenéticos por los métodos de UPGMA y Neighbor Joining. Los más representativos se presentan en las Figuras 7 a 11. Sin embargo, quizá lo más sobresaliente es la inconsistencia de los resultados. En la Figura 7 se muestra el árbol que más se ajusta a las hipótesis planteadas. Primero, es clara la diferenciación entre *Bos taurus* y *Bos indicus*, con valor de remuestreo de 100. Posteriormente, la segunda gran diferenciación es la de los bovinos europeos continentales y británicos, representados por la raza Hereford, aunque el valor de bootstrap es bajo (51). Después como poblaciones bien diferenciadas dentro de las europeas continentales, están la Berrenda en Negro, Palmera y sorprendentemente la Marismeña, aunque en estos últimos casos, el valor de remuestreo es demasiado bajo. Finalmente, se separan tres grupos uno formado por los Criollos Uruguayo, Argentino y Patagónico; otro por los Criollos Mexicanos, el Colombiano y Holandocebú; y el tercero formado por las razas restantes que muestran los valores de remuestreo más altos dentro de estos tres últimos grupos.

A partir del árbol filogenético de la Figura 7, se presentan distintas reconstrucciones de otras distancias. La Figura 8 muestra un árbol Neighbor-Joining a partir de la distancia de Reynolds. En este tipo de representación se aprecia más la distancia genética entre las poblaciones. Se aprecian cuatro agrupamientos uno formado por las cebuinas, donde se aprecia también su alejamiento con respecto a las otras poblaciones, uno formado por los Criollos Mexicanos además de Holandocebú y el Colombiano, otro formado por los Criollos Uruguayo, Argentino y Patagónico y otro de las demás razas europeas. Las poblaciones de Palmera y Hereford se muestran más alejadas de las otras y se aprecia en la base de la Palmera la separación de la Canaria.

La Figura 9 es la  $D_A$  también reconstruido por UPGMA pero con el largo de los brazos indicando las distancias genéticas. Las agrupaciones son las mismas que en la Figura 7, pero se aprecia más la diferencia entre las poblaciones.

La Figura 10 muestra un árbol Neighbor Joining construido con la distancia  $D_S$  de Nei. En este árbol, los valores de remuestreo son muy bajos con excepción de los calculados en las bifurcaciones de las razas cebuinas. En esta representación, primero se detectan tres grandes divisiones, en la primera se agrupan Marismeña, Berrenda en Colorado y Pajuna, en la segunda Holstein y Pardo Suizo y en la tercera todas las demás. Dentro de este último grupo, se hacen dos agrupaciones, uno formado por las poblaciones Palmera, Canaria y Patagónico y otro subdividido a su vez con los Criollos Mexicanos con las cebuinas y otro con las poblaciones de Berrenda en negro, Hereford, Uruguayo y Argentino. Se destaca la mayor influencia del Hereford en los Criollos Argentino y Patagónico y de las razas cebuinas en los Criollos de Chiapas y Colombiano y Holandocebú.

La Figura 11 presenta un árbol Neighbor Joining con la distancia de Cavalli Sforza y Edwards, donde se destacan nuevamente los bajos valores de Remuestreo y la separación de las poblaciones cebuinas del resto. Se mantienen los mismos grupos que en la Figura 7 aunque no se aprecia la separación de la Hereford y Palmera.

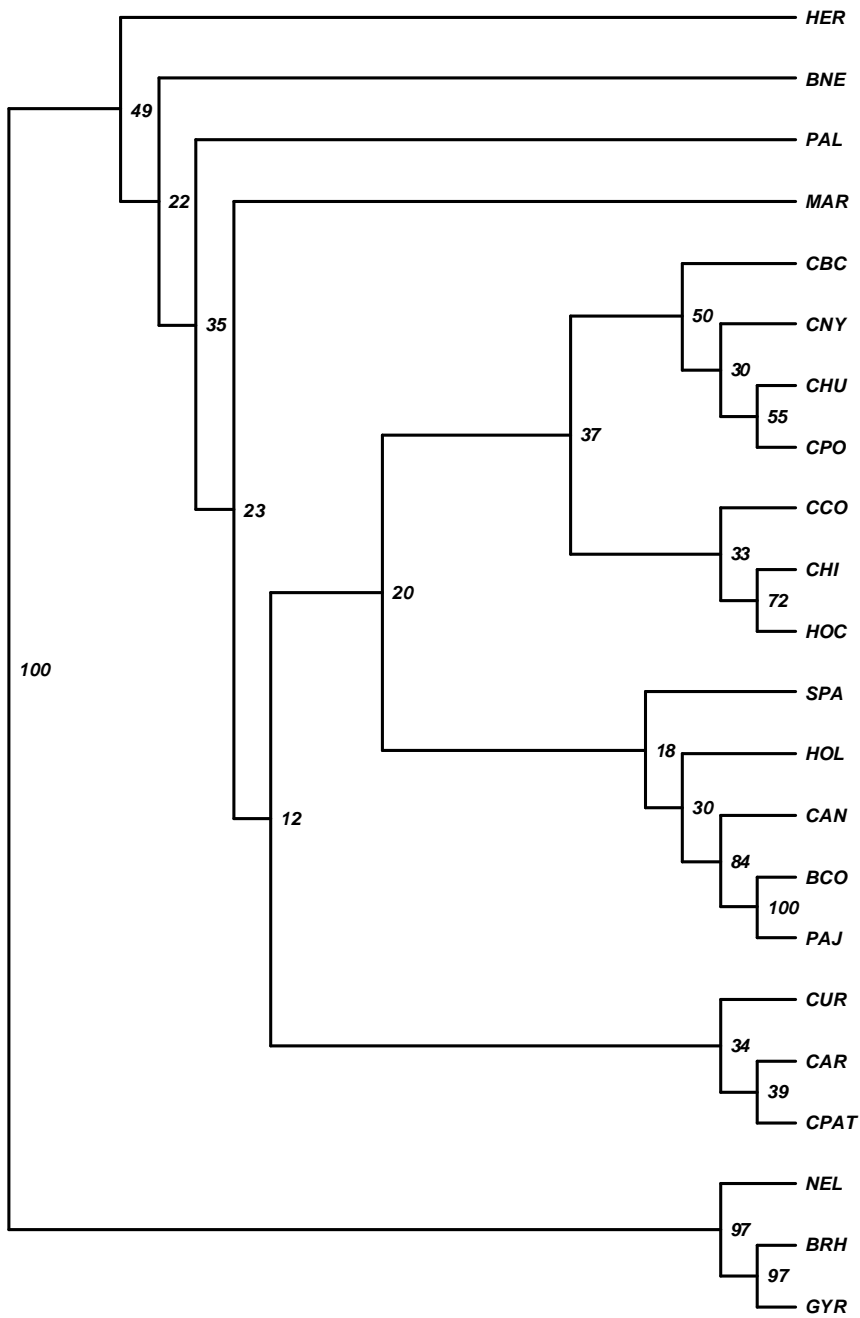
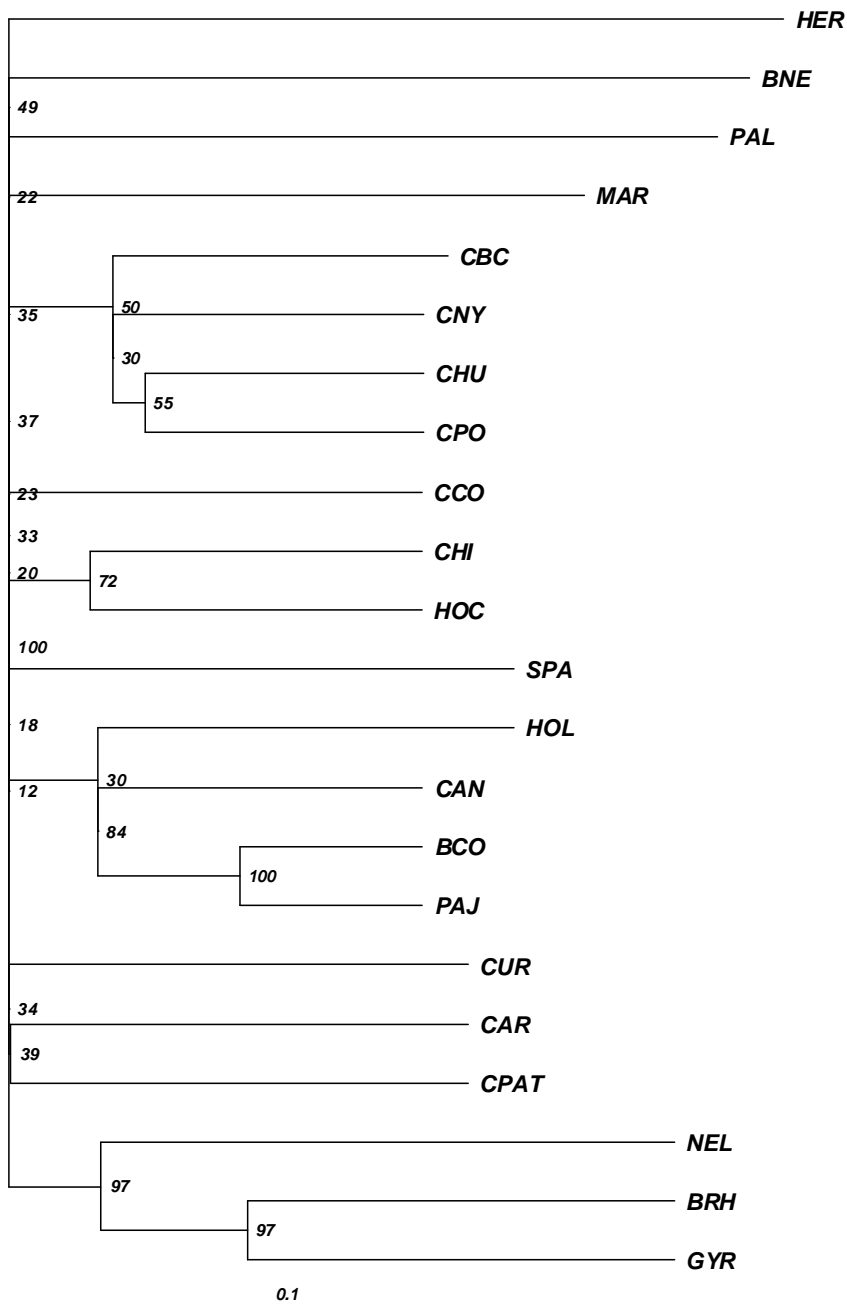
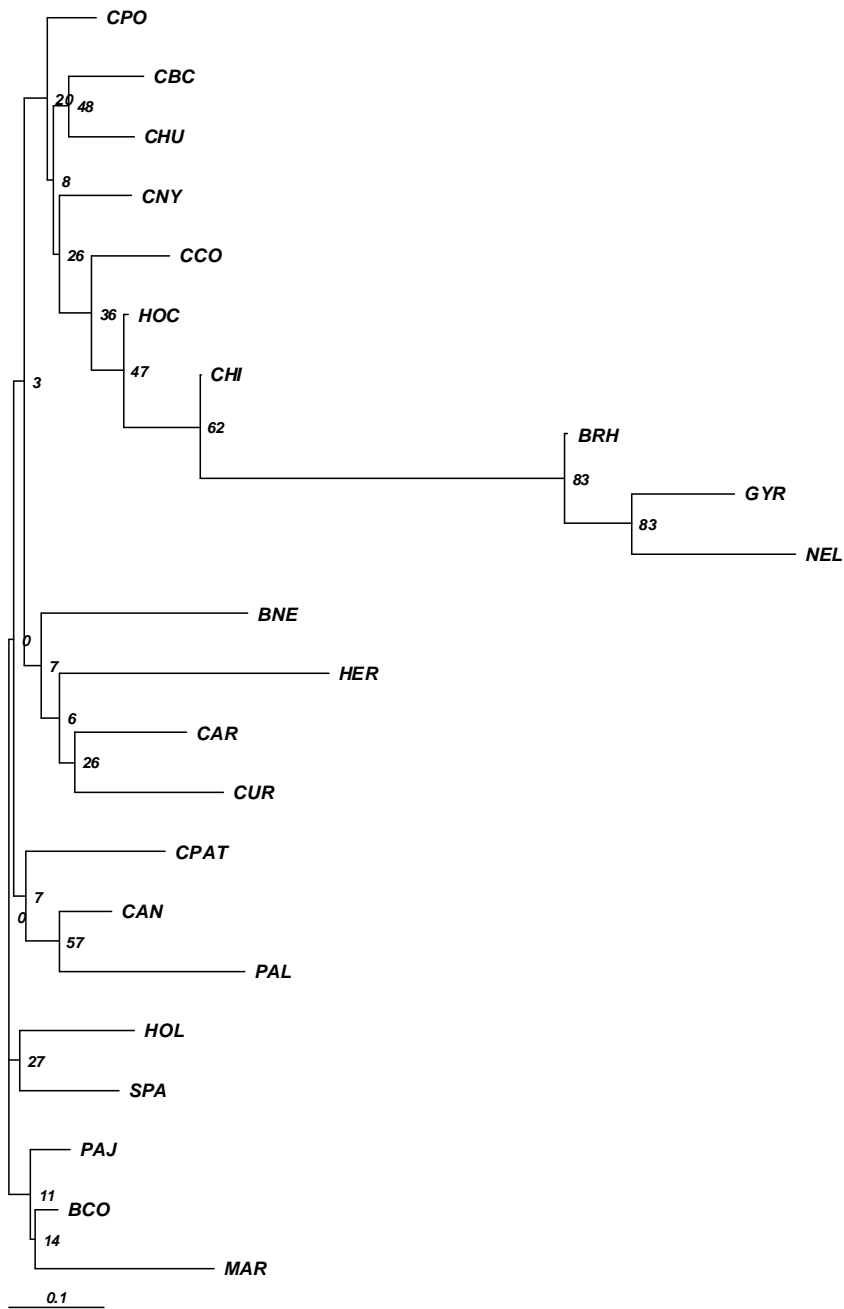


Figura 7. Árbol filogenético de la distancia  $D_A$  de Nei construido por el método UPGMA



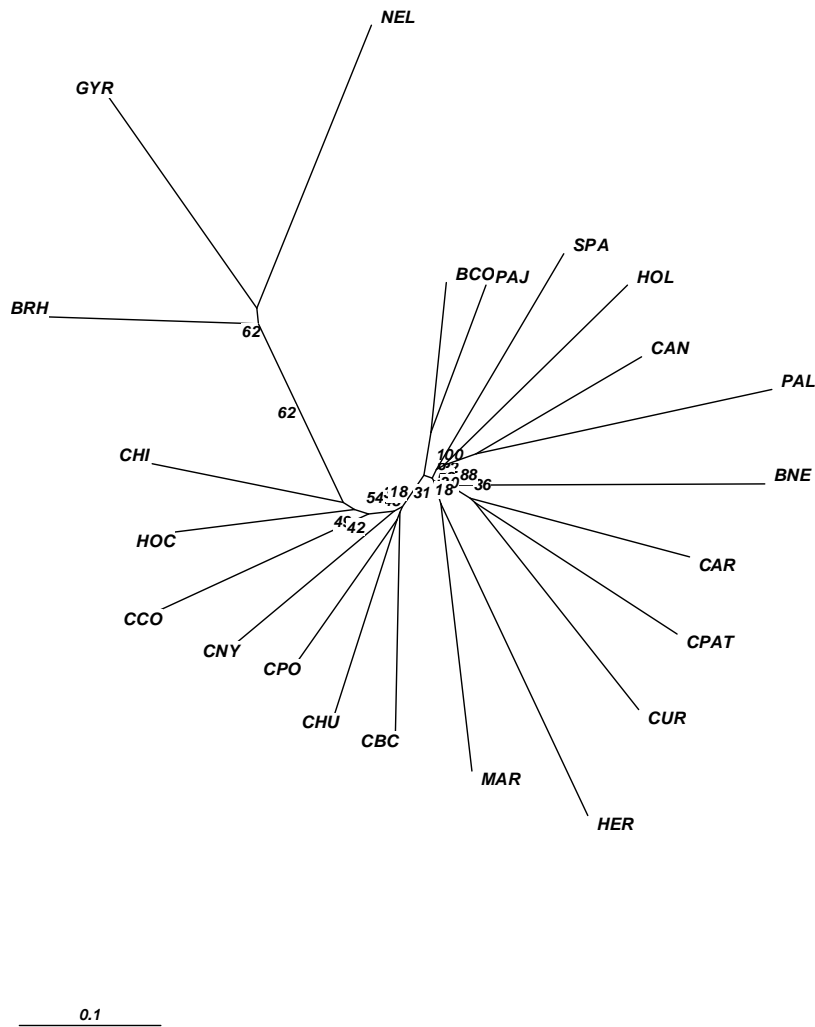


**Figura 9. Árbol filogenético de las distancias  $D_A$  de Nei construido por el método UPGMA**



**Figura 10. Árbol filogenético de las distancias  $D_S$  de Nei construido por el método Neighbor Joining**





**Figura 11. Árbol filogenético de la distancias de Cavalli Sforza y Edwards construido con el método Neighbor Joining**

## ***Asignación de individuos a poblaciones con métodos multilocus***

Se realizó un análisis utilizando el programa GeneClass V.2.0 de Cornuet (Cornuet y col., 1999). Primero utilizando el criterio de computación de Rannala y Mountain (1997), que está diseñado para identificar individuos a través de genotipos multilocus, inmigrantes o ancestros inmigrantes. Se utilizó el algoritmo de simulación de Paetkau y col (2004) simulando 10,000 animales por población. Los resultados se presentan en la Tabla 18. En las filas se colocan las poblaciones y en las columnas la población a la cual fueron asignadas por el programa. El algoritmo clasificó correctamente el 46.8% de los animales. Las poblaciones de Gyr (83%), Suizo Pardo (81%), Hereford (80%) y Criollos de Chiapas (80%) fueron las que mejor resultaron clasificadas y la más baja fue Berrenda en Colorado (8%). Salvo el Criollos de Chiapas, los demás Criollos Mexicanos se asignaron correctamente en porcentaje bajo, al igual que los otros Criollos americanos. Por otra parte, es notorio que muchos de los animales asignados erróneamente se colocaron en la población criolla de Chihuahua (165) y en la de Suizo Pardo (108) y a Holandocebú (57). En general las poblaciones de razas puras de referencia, no proporcionan la confianza suficiente en este método.

El siguiente criterio de computación utilizado fue el de Baudouin y Lebrun (2001) también con el algoritmo de simulación de Paetkau y col (2004), simulando 10,000 animales por población. Los resultados se presentan en la Tabla 19. El total de individuos asignados correctamente fue de 32.1%, menor al de Rannala y Mountain (1997). Aunque el porcentaje de animales asignados correctamente fue mayor (87%) en la población de Suizo Pardo seguida de la Gyr (83%). Hay que destacar que en las poblaciones de Criollo Argentino y Berrenda en Colorado no se asignó ningún animal correctamente. Y llama la atención que en la población de Palmera, se asignó correctamente solo el 5%. La poblaciones en las que se agruparon los animales mal asignados fueron Suizo Pardo (203) y Criollo de Chihuahua (211). En general las tendencias son similares, agrupándose el mayor porcentaje de animales asignados erróneamente en Suizo Pardo y Criollo de Chiapas.

El tercer método es el basado en las frecuencias génicas y fue desarrollado por Paetkau y col. (1995). Los resultados se presentan en la Tabla 20. El total de individuos correctamente asignado fue el 61.2%. Con este algoritmo el 100% de los animales Nelore y el 98% de los Holandocebú fueron asignados correctamente; sin embargo los porcentajes de asignación correcta en las poblaciones de referencia fue muy bajo (Holstein 18% y Suizo Pardo 19%). Dentro de los Criollos el porcentaje más alto se logró con el de Chiapas (53%). Una ventaja de este método fue que el número de individuos asignados incorrectamente fue menor agrupándose básicamente en Holandocebú (135) y en Berrenda en Colorado (86).

Los tres métodos de asignación tuvieron baja potencia y la mayor parte de los errores son en la asignación errónea de animales a otra población, aunque también se excluyen animales pertenecientes a la población de referencia, sobre todo en la población de Suizo Pardo, lo cual puede deberse a su influencia en las poblaciones de América. En ese sentido, las poblaciones de Cebú y la Hereford fueron las que mejor muestran su identidad y lejanía de las poblaciones españolas y de América en general.

**Tabla 18. Porcentaje de individuos asignados correctamente a la población correspondiente por el criterio bayesiano de Rannala y Mountain (1997)**

Pob.	Total	CBC	CHI	CHU	CNY	CPO	CAR	CCO	PAT	CUR	HER	HOL	SPA	BCO	BNE	MAR	PAJ	CAN	PAL	BRH	GYR	NEL	HOC
<b>Total</b>	761	3%	7%	23%	2%	1%	1%	2%	1%	4%	3%	2%	17%	1%	2%	2%	1%	3%	1%	4%	5%	3%	12%
<b>CBC</b>	21	<b>33%</b>	0%	43%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	5%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	19%
<b>CHI</b>	30	0%	<b>80%</b>	0%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	7%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	10%
<b>CHU</b>	19	5%	5%	<b>63%</b>	5%	5%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	11%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	5%
<b>CNY</b>	24	4%	4%	42%	<b>29%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	4%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	17%
<b>CPO</b>	43	5%	0%	56%	0%	<b>16%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	12%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	12%
<b>CAR</b>	45	2%	4%	56%	2%	2%	<b>16%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	13%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	4%
<b>CCO</b>	36	3%	14%	25%	3%	0%	0%	<b>39%</b>	0%	0%	0%	0%	6%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	11%
<b>PAT</b>	36	6%	3%	28%	0%	0%	0%	0%	<b>25%</b>	0%	0%	0%	11%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	25%
<b>CUR</b>	45	0%	4%	16%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>69%</b>	0%	0%	4%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	7%
<b>HER</b>	25	0%	8%	8%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>80%</b>	0%	4%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<b>HOL</b>	28	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>57%</b>	7%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	36%
<b>SPA</b>	31	0%	0%	16%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>81%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<b>BCO</b>	40	3%	0%	38%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	43%	<b>8%</b>	0%	0%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	8%
<b>BNE</b>	32	0%	3%	28%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	13%	3%	<b>50%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<b>MAR</b>	40	3%	3%	23%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	23%	3%	0%	<b>38%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	5%
<b>PAJ</b>	40	0%	5%	20%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	40%	3%	0%	0%	<b>20%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	13%
<b>CAN</b>	44	2%	2%	18%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	41%	0%	0%	0%	0%	<b>36%</b>	0%	0%	0%	0%	0%
<b>PAL</b>	43	5%	2%	23%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	35%	0%	0%	0%	0%	9%	<b>21%</b>	0%	0%	0%	2%
<b>BRH</b>	38	0%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>79%</b>	18%	0%	0%
<b>GYR</b>	29	0%	7%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	3%	<b>83%</b>	0%	0%
<b>NEL</b>	29	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	17%	<b>79%</b>	3%
<b>HOC</b>	43	0%	7%	9%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	2%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	7%	0%	<b>74%</b>

**Tabla 19. Porcentaje de individuos asignados correctamente a la población correspondiente por el criterio bayesiano de Baudouin y Lebrun (2001)**

<b>Pob.</b>	<b>Total</b>	<b>CBC</b>	<b>CHI</b>	<b>CHU</b>	<b>CNY</b>	<b>CPO</b>	<b>CAR</b>	<b>CCO</b>	<b>PAT</b>	<b>CUR</b>	<b>HER</b>	<b>HOL</b>	<b>SPA</b>	<b>BCO</b>	<b>BNE</b>	<b>MAR</b>	<b>PAJ</b>	<b>CAN</b>	<b>PAL</b>	<b>BRH</b>	<b>GYR</b>	<b>NEL</b>	<b>HOC</b>
<b>Total</b>	761	4%	5%	29%	1%	0%	0%	1%	1%	3%	2%	2%	30%	0%	1%	1%	1%	1%	0.3%	3%	8%	2%	5%
<b>CBC</b>	21	<b>19%</b>	0%	52%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	24%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	5%
<b>CHI</b>	30	7%	<b>60%</b>	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	17%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	7%	0%	7%
<b>CHU</b>	19	11%	5%	<b>58%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	26%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<b>CNY</b>	24	0%	13%	50%	<b>21%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	17%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<b>CPO</b>	43	5%	0%	67%	0%	<b>2%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	26%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<b>CAR</b>	45	7%	2%	67%	0%	0%	<b>0%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	24%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<b>CCO</b>	36	8%	6%	42%	3%	0%	0%	<b>22%</b>	0%	0%	0%	0%	17%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	3%	0%	0%
<b>PAT</b>	36	6%	3%	39%	0%	0%	0%	0%	<b>19%</b>	0%	0%	0%	28%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	6%
<b>CUR</b>	45	2%	4%	29%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>47%</b>	0%	0%	13%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	4%
<b>HER</b>	25	0%	8%	16%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>68%</b>	0%	8%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<b>HOL</b>	28	4%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>46%</b>	29%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	21%
<b>SPA</b>	31	0%	0%	13%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>87%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<b>BCO</b>	40	3%	0%	33%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	60%	<b>0%</b>	0%	0%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	3%
<b>BNE</b>	32	0%	0%	41%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	22%	3%	<b>34%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<b>MAR</b>	40	5%	0%	38%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	40%	0%	0%	<b>15%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	3%
<b>PAJ</b>	40	0%	0%	25%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	55%	0%	0%	0%	<b>13%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	8%
<b>CAN</b>	44	0%	0%	20%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	64%	0%	0%	0%	0%	<b>16%</b>	0%	0%	0%	0%	0%
<b>PAL</b>	43	7%	2%	23%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	58%	0%	0%	0%	0%	5%	<b>5%</b>	0%	0%	0%	0%
<b>BRH</b>	38	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>58%</b>	42%	0%	0%
<b>GYR</b>	29	0%	7%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	3%	<b>83%</b>	0%	0%
<b>NEL</b>	29	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	38%	<b>62%</b>	0%
<b>HOC</b>	43	7%	9%	16%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	2%	16%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	9%	0%	<b>40%</b>

**Tabla 20. Porcentaje de individuos asignados correctamente a la población correspondiente por el criterio de frecuencias Paetkau y col. (1995)**

Pob.	Total	CBC	CHI	CHU	CNY	CPO	CAR	CCO	PAT	CUR	HER	HOL	SPA	BCO	BNE	MAR	PAJ	CAN	PAL	BRH	GYR	NEL	HOC	
<b>Total</b>	761	2%	3%	2%	3%	6%	3%	4%	2%	4%	3%	1%	1%	16%	2%	2%	2%	6%	3%	5%	3%	4%	23%	
<b>CBC</b>	21	<b>38%</b>	0%	5%	5%	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	5%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	38%
<b>CHI</b>	30	10%	<b>53%</b>	0%	0%	7%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	27%
<b>CHU</b>	19	0%	0%	<b>21%</b>	21%	16%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	5%	16%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	21%
<b>CNY</b>	24	0%	0%	8%	<b>46%</b>	8%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	4%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	33%
<b>CPO</b>	43	5%	0%	9%	0%	<b>70%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	16%
<b>CAR</b>	45	0%	0%	0%	2%	7%	<b>44%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	36%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	9%
<b>CCO</b>	36	0%	0%	3%	0%	0%	0%	<b>72%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	22%
<b>CPAT</b>	36	0%	0%	0%	3%	0%	0%	0%	<b>42%</b>	0%	0%	0%	0%	14%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	42%
<b>CUR</b>	45	0%	0%	0%	0%	0%	0%	2%	0%	<b>76%</b>	0%	0%	0%	2%	0%	0%	0%	2%	0%	0%	0%	0%	0%	18%
<b>HER</b>	25	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>84%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	16%
<b>HOL</b>	28	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>18%</b>	0%	4%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	79%
<b>SPA</b>	31	0%	3%	6%	3%	10%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>19%</b>	19%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	35%
<b>BCO</b>	40	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>83%</b>	0%	0%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	13%
<b>BNE</b>	32	0%	0%	3%	0%	6%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	34%	<b>47%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	9%
<b>MAR</b>	40	0%	0%	5%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	45%	0%	<b>45%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	5%
<b>PAJ</b>	40	3%	0%	0%	0%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	38%	0%	0%	<b>38%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	0%	18%
<b>CAN</b>	44	0%	0%	0%	2%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	9%	0%	0%	0%	<b>80%</b>	0%	0%	0%	0%	0%	7%
<b>PAL</b>	43	0%	0%	0%	0%	2%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	7%	0%	0%	0%	23%	<b>60%</b>	0%	0%	0%	0%	7%
<b>BRH</b>	38	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>92%</b>	0%	0%	0%	8%
<b>GYR</b>	29	0%	7%	0%	7%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	10%	<b>69%</b>	0%	0%	7%
<b>NEL</b>	29	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>100%</b>	0%	0%
<b>HOC</b>	43	0%	2%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	<b>98%</b>

### Estructura de la Población Criolla Mexicana.

Se utilizó un algoritmo bayesiano del programa de análisis Structure (Pritchard y col., 2000), que emplea un modelo basado en método de cadenas Markov de Monte Carlo, que estima la distribución *a posteriori* de cada coeficiente de mezcla de cada individuo ( $q$ ). La media de esta distribución representa una estimación de la proporción que el genoma de un individuo tiene de las poblaciones parentales. El algoritmo supone que las poblaciones ancestrales están en equilibrio Hardy-Weinberg.

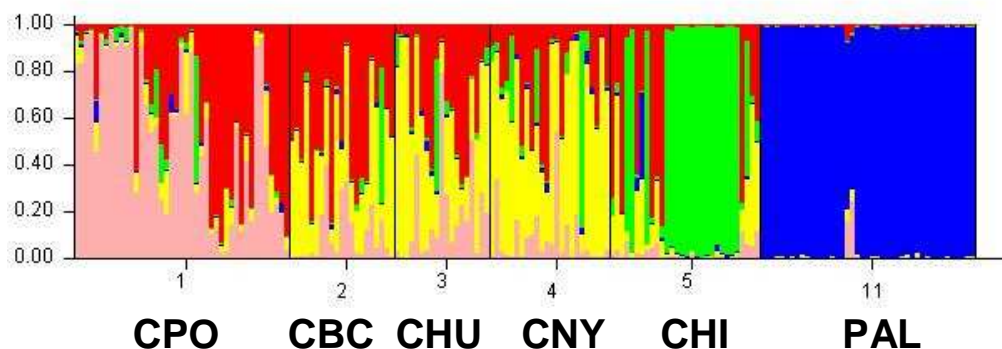
Con el programa Structure se realizaron dos análisis, el primero fue la asignación de los individuos a cluster, los cuales relacionan a los individuos más parecidos genéticamente y segundo, determinar el número real de poblaciones, desde el punto de vista genético.

Para el primer caso, se realizó un análisis utilizando un algoritmo bayesiano suponiendo que las frecuencias alélicas están correlacionadas y que las poblaciones en estudio están mezcladas. Para cada modelo se realizaron una serie de corridas independientes para cada valor de K (número de poblaciones) entre 1 y 5. Los resultados presentados están basados en corridas de  $10^6$  iteraciones o más, seguidas a un periodo previo (burnin) de 100,000 iteraciones. En la mayoría de los casos se obtuvieron estimadores de verosimilitud consistentes entre corridas independientes, En la Tabla 21 se presenta la estimación de la probabilidad a posteriori de los valores asumidos de K, para asumir el valor real de poblaciones (K), calculado de acuerdo a Pritchard y col. (2000).

**Tabla 21. Probabilidad estimada a posteriori de K para los datos de Criollo Mexicano y Palmera**

K	Ln P(D)	P(K  X)
1	-15701.0	0.000
2	-14628.7	0.000
3	-14355.7	0.000
4	-14288.5	0.000
<b>5</b>	<b>-14216.1</b>	<b>0.063</b>
6	-14737.0	0.000
7	-14383.5	0.000

Se realizó exclusivamente con las poblaciones Criollas Mexicanas y la raza Palmera como control, pues es una de las poblaciones, que quizá por su aislamiento esta bien definida. De acuerdo al resultado de probabilidad, se determinó que existen 5 poblaciones. En este caso, se presenta en la Figura 12 la representación gráfica de los resultados. Cada individuo de las poblaciones estudiadas está representado por una línea vertical, que está dividida en k segmentos coloreados que representan la fracción genotípica de cada cluster inferido



**Figura 12. Poblaciones criollas detectadas por el método de Pritchard y col. (2000).**

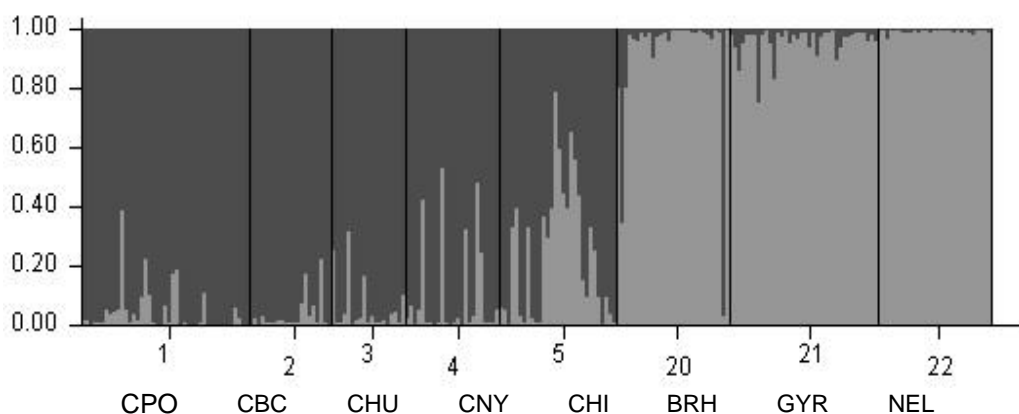
Se aprecia que la población de Palmera es la única definida correctamente. Para observar a mayor detalle, en la Tabla 22 se presentan las proporciones de cada población asignados a cada cluster. Es notorio que las cinco poblaciones de Criollos mexicano, comparten los clusters 1 y 4 en distintas proporciones, pero superiores al 0.120, salvo la población poblana (0.063) en el cluster 4. Por otra parte, el cluster 2 da identidad al Criollo de Chiapas (0.605) y el cluster 5 al de Puebla (0.551). El cluster tres agrupa prácticamente a toda la población de Palmera, exclusivamente.

**Tabla 22. Proporción de asignación a cada población a cada cluster cuando K=5.**

Población	CLUSTER				
	1	2	3	4	5
<b>CPO</b>	0.342	0.033	0.011	0.063	0.551
<b>CBC</b>	0.464	0.040	0.010	0.380	0.105
<b>CHU</b>	0.303	0.051	0.011	0.449	0.186
<b>CNY</b>	0.224	0.084	0.014	0.587	0.091
<b>CHI</b>	0.227	0.605	0.021	0.120	0.027
<b>PAL</b>	0.006	0.004	0.971	0.006	0.013

### **Influencia de Cebú en los Criollos de México.**

Utilizando la misma metodología y con el mismo modelo de análisis, que supone que las frecuencias alélicas están correlacionadas y que las poblaciones están mezcladas, se analizaron las cinco poblaciones de Criollo Mexicano además de las tres poblaciones de Cebú. Los resultados se muestran en la Figura 13. Se aprecia que los Criollos de Chipas y Nayarit son los que tienen mayor influencia Cebuina con 24.3% y 10.0%, respectivamente. Los otros tres también muestran influencia de Cebú pero menor al 5.0%.



**Figura 13. Porcentaje de cruzamiento con Cebú detectado en las Poblaciones Criollas con el programa de Pritchard y col. (2000)**

### Estructura de todas las poblaciones del estudio

Al igual que para la estructura de las poblaciones criollas por separado, se utilizó un algoritmo bayesiano del programa de análisis Structure (Pritchard y col., 2000), que emplea un modelo basado en método de cadenas Markov de Monte Carlo, que estima la distribución a posteriori de cada coeficiente de mezcla de cada individuo ( $q$ ). La media de esta distribución representa una estimación de la proporción que el genoma de un individuo tiene de las poblaciones parentales. El algoritmo supone que las poblaciones ancestrales están en equilibrio Hardy-Weinberg. Se utilizó un periodo de burnin de 100,000 repeticiones y un largo de corridas de 1,200,000.

En la Figura 14 se presenta el porcentaje promedio de la composición genética de cada población. Se utilizó un valor de  $k=22$  que es el número total de poblaciones en el estudio. Visualmente se aprecia que las poblaciones de referencia (Holstein, Suizo Pardo, Hereford, Nelore Brahman y Gyr), se diferencian correctamente de las otras y la cruce (Holandocebú) se comprueba como una mezcla de *Bos taurus* y *Bos indicus*. El algoritmo asigna cada individuo a una población independientemente de la identificación de la población de referencia. Es notorio que las poblaciones cebuinas se mantienen como una sola, que la diferenciación genética entre ellas es más endeble que entre las *Bos taurus*.

Los Criollos Mexicanos están constituidos por una mezcla de varias poblaciones incluyendo la influencia de las razas cebuinas, en distinta magnitud, dependiendo de la procedencia de la muestra. Además, las poblaciones españolas, Pajuna, Berrenda en negro y Berrenda en Colorado, también se muestran como poblaciones mezcladas, y sorprendentemente, la población de Marismeña que en los años recientes fue reconocida como raza, tiene una identidad genética única dentro de todas las poblaciones estudiadas. Las poblaciones de Criollos Uruguayo, Argentino y Patagónico, también se manifiestan como poblaciones bien estructuradas, el Criollo Colombiano, tampoco muestra una estructura clara y se detecta también la influencia de Cebú.



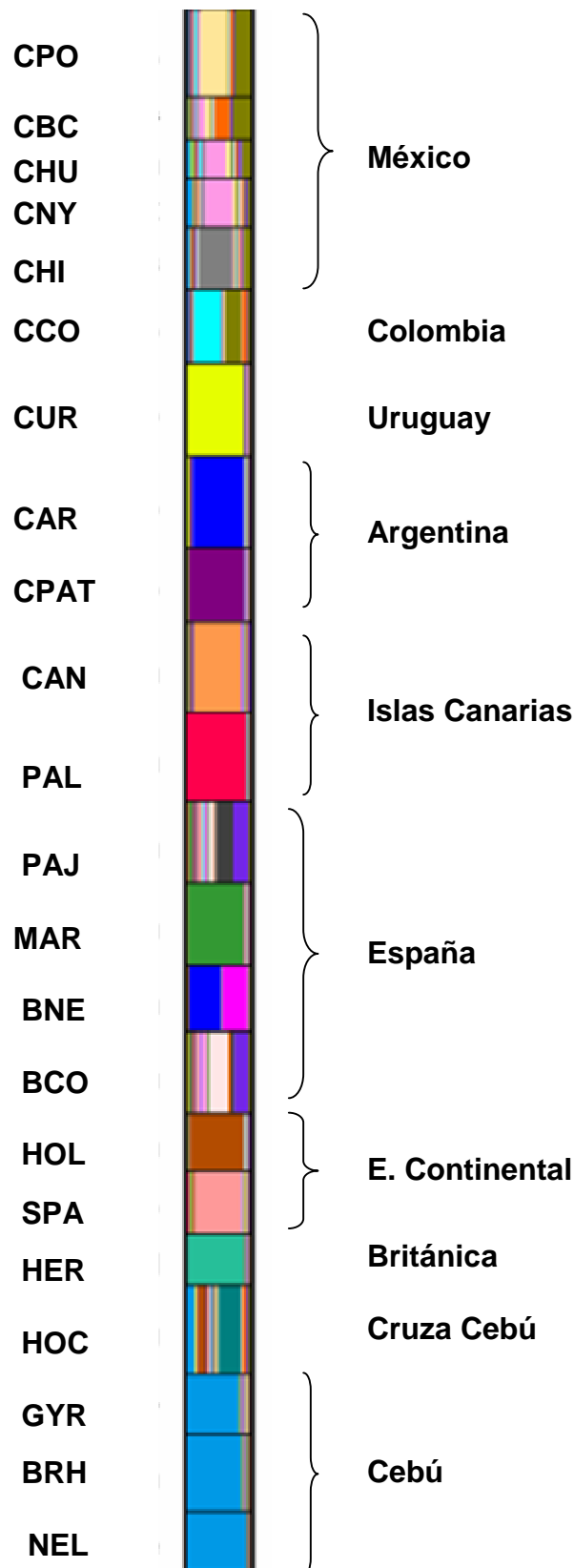


Figura 14. Proporción de individuos asignados a cada población con el programa de Pritchard y col. (2000)

### Estimación del número de poblaciones (K).

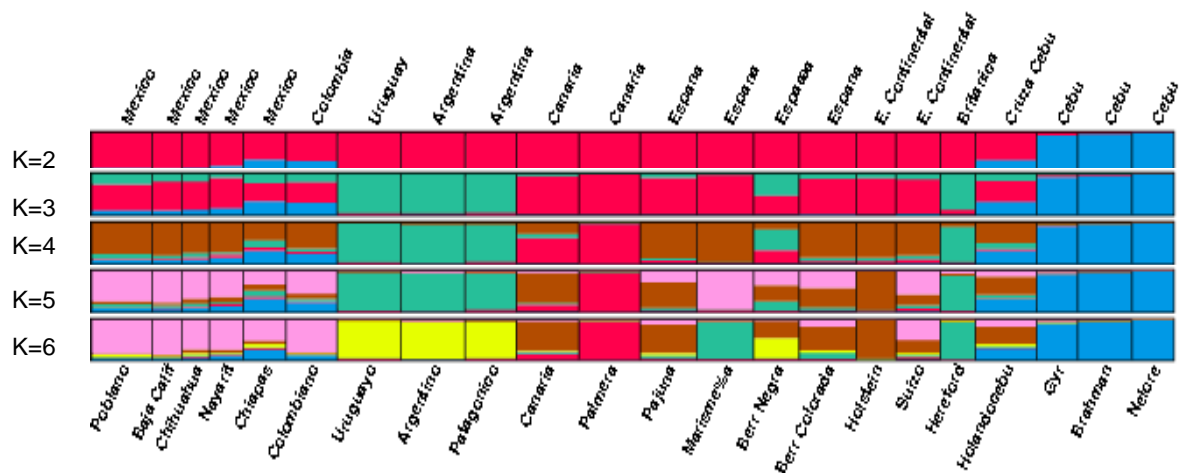
En primera instancia se determinó cual es el número de poblaciones con estructura definida ( $K$ ). Se realizaron corridas con valores de  $K$  de 2 a 17 y se realizó una prueba de probabilidad a posteriori para determinar el valor más probable, calculado de acuerdo a Pritchard y col. (2000) con lo que se determinó que el número de poblaciones fue de 14 (Tabla 23).

**Tabla 23. Probabilidad estimada a posteriori de  $K$  para todas las poblaciones estudiadas ( $n=22$ ).**

<b>K</b>	<b>Ln P(D)</b>	<b>P(K  X)</b>
2	-64527.4	0.000
3	-63138.4	0.000
4	-62051.6	0.000
5	-61250.2	0.000
6	-60619.2	0.000
7	-60052.8	0.000
8	-59690.1	0.000
9	-59385.2	0.000
10	-58868.8	0.000
11	-58637.4	0.000
12	-58386.5	0.000
13	-57654.3	0.000
14	<b>-57536.1</b>	<b>1.000</b>
15	-57775.1	0.000
16	-57794.5	0.000
17	-57584.3	0.000

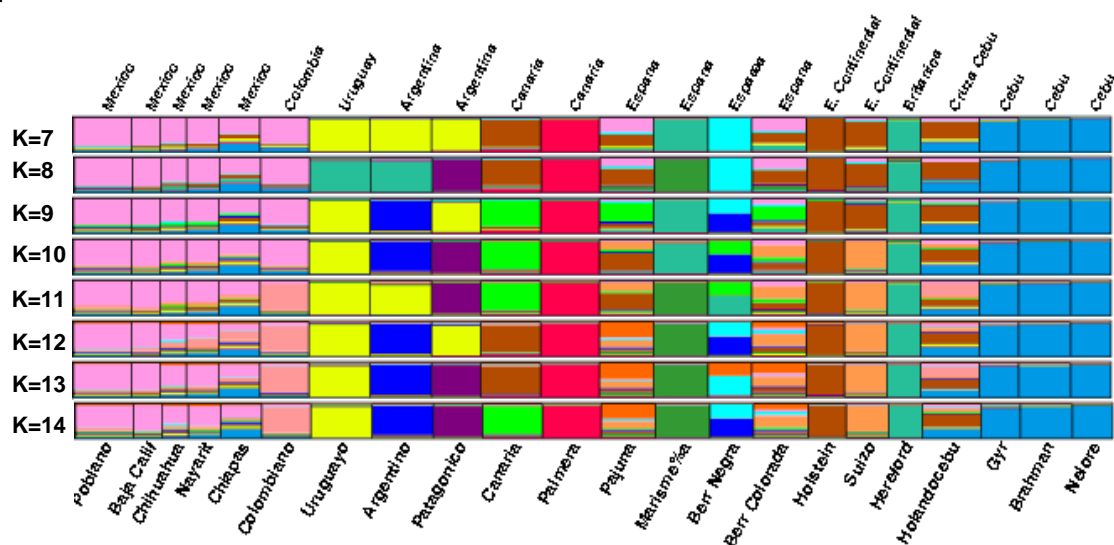
### Estructura de las Poblaciones.

El algoritmo del programa Structure también permite detectar las relaciones genéticas entre las poblaciones. En la Figura 15 se presenta gráficamente el valor de  $q$  cuando se suponen de 2 a 6 poblaciones.



**Figura 15. Análisis de la estructura de las poblaciones bovinas de K=2 a K=6 con el programa de Pritchard y col. (2000).**

Cuando K=2 la gran división corresponde a la presencia de *Bos taurus* y *Bos indicus*. Como era de suponer, las poblaciones cebuinas se muestran bastante homogéneas y la población Holandocebu (cruza) admite la influencia de ambos grupos. Es necesario recalcar que los Criollos de Chiapas y Colombiano muestran influencia de razas cebuinas y en menor grado los demás Criollos Mexicanos. Cuando k=3 se separan dentro de las *Bos taurus*, las que tienen influencia británica (Hereford). Aparentemente, los Criollos Uruguayo, Argentino y Patagónico, son más parecidos a la población de Hereford que a las otras poblaciones *Bos taurus* continentales, aunque se detecta también cierta influencia en los Criollos de México. Cuando el valor de K=4, se diferencia la población de Palmera dentro de las poblaciones de *Bos taurus* y se detecta su influencia en la población de Vaca Canaria. En el caso de K=5, hay una gran división entre las razas españolas y se apartan también los Criollos Mexicanos Marismeña y Suizo Pardo. Cuando k=6 las poblaciones de Criollo Argentino, Patagónico y Uruguayo se separan de Hereford. Es de notar también el caso de las Berrendas que no se ubican claramente en ningún cluster mostrando que probablemente están mezcladas.



**Figura 16. Análisis de la estructura de las poblaciones bovinas de K=7 a K=14 con el programa de Pritchard y col. (2000).**

En la Figura 16 se presenta la continuación desde el valor de K=7 a K=14, el cual es el número máximo de poblaciones detectadas por el programa. En esta Figura se aprecia ya claramente la definición de las poblaciones que son razas bien definidas como las cebuinas, aunque se muestra que el nivel de diferenciación entre las cebuinas es menos que en las taurinas, la Hereford de muestra como una raza consistente al igual que la Holstein y la Suiza. Considerando como base estos resultados, se puede hipotetizar, que las razas Marismeña y Palmera, son razas en peligro de extinción (de acuerdo a los criterios de la FAO) pero que mantienen una identidad propia. Dentro de las poblaciones criollas, se diferencian bien todas las Suramericanas y resulta interesante que, las Criollas Mexicanas se manifiestan como una sola población, con cierto grado de mezcla con otras razas; Chiapas y Nayarit con Cebú y Baja California y Chihuahua con Hereford.

## DISCUSIÓN.

---

El concepto de raza en el ganado se originó en Inglaterra en el Siglo XVIII por Robert Bakewell y fue durante ese periodo en que el desecho de animales y los apareamientos consanguíneos se utilizaron para lograr metas específicas logrando un cambio importante en los animales (Wiener y col., 2004). Por la influencia Anglo Sajona de las últimas décadas, en México las poblaciones Criollas han sido despreciadas y no valoradas como recursos genéticos que tienen una variabilidad genética única y por tanto importante.

### **Variabilidad Genética.**

Las poblaciones criollas de México, han sufrido diversos cambios desde su llegada por parte de la colonización española en el siglo XVI (Guevara y Lira-Noriega, 2004; Tejera y Capote, 2005) y hasta finales del siglo XX con la introducción de razas “mejoradoras”, tratando de aprovechar del Criollo su adaptación a ambientes hostiles y tomándolos como base para los cruzamientos (Hernández García, 2001). La ganadería extensiva es característica del manejo de este tipo de ganado, sobre todo en las poblaciones del norte del país, viviendo en climas extremos, donde no logran sobrevivir las razas que han sido seleccionadas para ambientes menos cambiantes (Aguilar Robledo, 1991). Como con la fauna silvestre, el cambio de uso del suelo (Reyes Hernández y col., 2006), esta formando pequeñas subpoblaciones con tendencia a la extinción.

### **Número de Alelos.**

El número de alelos privado podría estar relacionado con la singularidad de alguna raza, sin embargo esto es difícil de comprobar pues se requeriría un muestreo de todas las poblaciones posibles. En este caso, lo único sobresaliente fue que se detectaron más alelos exclusivos en las poblaciones *Bos indicus*, que podría interpretarse como una diferencia con las poblaciones *Bos taurus*. El mayor número promedio de alelos se observó en Holandocebú (9.07), seguido de Criollo Poblano (8.11) y el menor fue para Hereford (4.93) y muy cerca Berrenda en Negro (5.00) y el Criollo Patagónico (5.04). Desde el punto de vista de la conservación, la biodiversidad que presentan las poblaciones Criollas Mexicanas, queda manifiesta en este trabajo, donde se destaca el 12 % de alelos que no se presentan en las otras poblaciones estudiadas, considerando que se incluyeron razas de distintas procedencias, desde otras poblaciones criollas de América, hasta poblaciones *Bos indicus*, incluyendo la Nelore procedente de Brasil. Sin lugar a dudas, en los trabajos de conservación deben involucrarse el mayor número de poblaciones posible, para detectar sus similitudes o diferencias y tomar la mejor decisión para la conservación. Los altos costos que involucra la conservación del ambiente (Lewandrowski y col., 1999) y de las poblaciones *in situ* (Simianer, 2005a), requieren de un estudio a fondo que permita optimizar los recursos.

El número medio de alelos de los Criollos Mexicanos fue similar a las de un estudio realizado en Polonia (Grzybowski y Prusak, 2004). La población Holandocebú es una cruce de Holstein con Cebú, por lo que esta podría ser la causa del mayor número de alelos detectados. El Criollo Poblano, también puede contener alguna proporción de otras razas, lo que justificaría la mayor cantidad de alelos en promedio. El número total

de alelos presentes en al menos una población fue de 368 alelos muy superior al encontrado en 13 razas europeas con 26 microsatélites (Simianer, 2005b). En general, cabría esperar un reducido número de alelos en las poblaciones mexicanas que de origen sufrieron dos “cuellos de botella”, el primero en el Caribe y el segundo en tierras continentales. El alto número de alelos encontrados puede indicar dos situaciones: gran variación en las poblaciones ibéricas del siglo XV, o migración de otras razas en épocas más recientes.

### **Heterocigosidad Observada, Esperada y PIC.**

El valor promedio de Heterocigosidad Observada más bajo fue para el Criollo de Baja California y el más alto para el Criollo de Chiapas, aunque ambos son más altos que los obtenidos en el Criollo Uruguayo (0.584) (Armstrong y col., 2006). El número total de alelos está directamente relacionado con la Heterocigosidad Esperada (Vallejo y col., 2003) y en este caso la correlación fue de 0.92; esto es evidente en el Criollo Poblano y Holandocebú, que también presentan una alta Heterocigosidad Esperada. Se obtuvieron valores altos en general, en la Heterocigosidad Esperada y en los Criollos Mexicanos fue mayor a la de los Criollos Argentino, Patagónico y Uruguayo reportados por Martínez y col. (2003). La alta Heterocigosidad también puede ser indicativa de ausencia de selección y de una gestión abierta de las poblaciones.

El Contenido de Información Polimórfica fue mayor que el encontrado por Yoon (2005) en bovinos de Corea. Sin embargo, los límites del rango son menores al encontrado en poblaciones Holstein y Hereford de Polonia (Radko y col., 2005). La información del Criollo Uruguayo indica un rango del PIC en 17 microsatélites de 0.266 para *HEL13* y 0.794 para *CSSM66* (Armstrong y col., 2006). Estos valores en general fueron más pequeños que los obtenidos en las poblaciones Criollas Mexicanas en promedio (0.510 en *INRA35* y 0.857 en *TGLA53*). La Heterocigosidad Esperada y el PIC en los microsatélites generalmente son alto debido a que son codominantes y multialélicos; para hacer estudios genéticos se escogerían los microsatélites con el más alto valor de PIC. En caso de pruebas de paternidad existen otros aspectos a considerar como son la facilidad de lectura del microsatélite, la posibilidad de hacer todos los loci en un sólo gel y la experiencia previa de que todos los alelos amplifiquen correctamente.

### **Equilibrio Hardy-Weinberg.**

Las poblaciones que tuvieron más microsatélites desequilibrados, tuvieron valores de  $F_{is}$  más altos, lo que indica un exceso de homocigotos en estas poblaciones. Las que tuvieron menos *loci* desequilibrados fueron la Holstein con uno y Hereford y Marismeña con dos. Contrasta con otro trabajo realizado con Holstein en donde los siete microsatélites resultaron desequilibrados (Cerit, 2003). En un trabajo con Criollo Uruguayo la mayoría de los microsatélites estuvieron equilibrados (Armstrong y col., 2006). El valor de las pruebas de equilibrio radica básicamente en que dan validez a las conclusiones que surjan de otras pruebas estadísticas que determinan la estructura de las poblaciones.

El uso de paneles de microsatélites diferentes, así como en la metodología, dificulta la comparación de resultados, lo que al paso del tiempo, redundaría en desperdicio de tiempo y recursos (Johansson y col., 2003; Pompanon y col., 2005). El panel de microsatélites utilizado ha sido ampliamente probado en este tipo de estudios ya que 26 de los 27 microsatélites forman parte del panel empleado en el proyecto europeo de biodiversidad bovina <http://www.projects.roslin.ac.uk/cdiv/>. Además se dispone de tres muestras de referencia (RH615, CI2000 e INRA2000) en este proyecto, con lo que es posible estandarizar los resultados si en el futuro fuera necesario comparar los resultados obtenidos en este trabajo con los del proyecto europeo. Este panel también mostró ser eficiente, pues todos los marcadores resultaron polimórficos y solo el *HAUT27* mostró desequilibrio en 10 poblaciones (37%) y en 9 el *INRA35* (33.3%). Lo adecuado es que la mayoría de los microsatélites estén en equilibrio para dar validez a los análisis estadísticos posteriores como lo ha demostrado Gomes (1999) con 44 marcadores. Cuando una población tiene varios microsatélites en desequilibrio, indica que la población está bajo alguna fuerza que cambia las frecuencias genotípicas:

mutación, migración, selección o deriva. En algunas ocasiones un número elevado de *loci* en desequilibrio puede indicar que hay errores en la tipificación de los microsatélites o alelos no amplificados, y por lo tanto se puede llegar a conclusiones erróneas (Bradley y Vigilant, 2002; Hoffman y Amos, 2005). Las causas pueden ser variadas pero el error más común (60-80%) es debido a factores humanos (Pompanon y col., 2005), como la interpretación errónea de las bandas de los microsatélites generando falsos alelos que posteriormente alteran los resultados. Existen varios trabajos interesantes al respecto (Bonin y col., 2004; Bradley y Vigilant, 2002; Pompanon y col., 2005). La mejor manera de detectar este tipo de errores a través de las pruebas de paternidad (Hoffman y Amos, 2005; Pemberton y col., 1995; Sobel y col., 2002). Sería necesario implementar algún número de controles con genealogía conocida para verificar la calidad del proceso. El panel de microsatélites utilizado en este trabajo ha sido usado para realizar la comprobación de maternidad y la asignación de paternidad en la raza Marismeña, y control de filiación de la Vaca Palmera. Con estas pruebas se ha visto que el marcador *INRA35* muestra una amplificación diferencial que afecta al alelo 112: cuando está presente el alelo 106, el 112 no se amplifica correctamente y en muchas ocasiones no se ve. Cuando el alelo 106 no se encuentra presente, el alelo 112 se amplifica correctamente. Esta puede ser la explicación de porqué este marcador está desequilibrado en 9 de las poblaciones estudiadas.

En el caso del marcador *HAUT27*, que se encuentra desequilibrado en 10 poblaciones, el motivo podría ser que a veces se producen dificultades en la amplificación y se presentan picos inespecíficos que pueden ser confundidos con falsos alelos. En el caso del Criollo Poblano que presenta 12 microsatélites en desequilibrio puede ser porque recientemente haya tenido alguna migración que la provoque, o que las localidades en donde se obtuvieron las muestras haya una consanguinidad muy fuerte que haya provocado la subdivisión de esta población. Ambas situaciones son posibles, pues el Estado de Puebla está en el centro de México y uno de los más accidentados desde el punto de vista geográfico. Al estar ubicado en la zona más poblada del país funda la sospecha de la presencia de otras razas y que se hayan apareado con estas poblaciones de Criollo Poblano. La otra posibilidad que parece más congruente, es que el muestreo se realizó en comunidades tan aisladas que provoque que sean muy consanguíneas y que al considerarlas como una sola población se provoque el desequilibrio en los marcadores y se confirme con el alto valor de Fis (0.137). En el caso de la Berrenda en Negro, que obtuvo 11 microsatélites en desequilibrio, puede ser porque el bajo número de su población, la mantiene en hatos que están mezclados con ganado de otras razas. El Fis (0.094) elevado también denota esta subdivisión.

### ***Estadísticos F en los Criollos Mexicanos***

Los estadísticos F están en función directa del equilibrio Hardy-Weinberg y son fundamentales en la detección de la estructura de las poblaciones. El valor de Fis calculado en las poblaciones de estudio concuerda con su historial (Tabla 7). Dentro de los Criollos Mexicanos sólo el de Puebla presentó un Fis estadísticamente mayor a cero ( $P < 0.05$ ), este hecho se puede explicar como se mencionó anteriormente, porque el Estado mexicano de Puebla es uno de los más accidentados del país y aunque existen antecedentes de su cruzamiento reciente con otras razas con el fin de aumentar su productividad (Fernández Haddad, 2003; González Domínguez, 1989), no han llegado a las comunidades más apartadas, pues no se detectó la mezcla de alguna otra de las razas estudiadas. En el caso del Criollo de Chihuahua, en un estudio previo se detectaron subpoblaciones, aunque sólo uno de los cinco lugares de muestreo se detectó una población diferente (Russell y col., 2000). Con estos resultados se puede determinar que el muestreo se realizó en forma adecuada en los Criollos de México y que solo se detectó subdivisión en el Criollo de Puebla.

El valor de  $F_{st}$  obtenido entre de las poblaciones Criollas Mexicanas es bajo 0.033, lo que indica que existe poca diferenciación entre las poblaciones. Este resultado es interesante, puesto que el muestreo se realizó en poblaciones distribuidas en todo el territorio mexicano. En otro estudio desarrollado con el Criollo Argentino obtuvieron un valor ligeramente más alto 0.04 (Ripoli y col., 2000). En razas bovinas de carne el  $F_{st}$  fue de 0.089 (Ciampolini y col., 2006) y de 0.07 (Cañon y col., 2001). Entre las poblaciones portuguesas fue de 0.09 (Mateus y col., 2004), entre razas cebuinas 0.12 (Metta y col., 2004; Sodhi y col., 2005). Sin embargo, los resultados son similares 0.036) a los que se obtuvieron en un estudio con Criollo Casanare, Suizo Pardo, Cebú y cruza. En un estudio con 18 razas europeas el  $F_{st}$  obtenido fue de 0.068 y consideraron razas de España, Francia y Portugal. Cuando lo hicieron dentro de cada país, el nivel de diferenciación medido con el  $F_{st}$  fue de 0.038, 0.071 y 0.060 en Francia, España y Portugal, respectivamente (Jordana y col., 2003). Ante estos resultados, podría considerarse que las poblaciones Criollas de México están poco diferenciadas entre ellas, debido básicamente a su distribución geográfica.

### ***Estadísticos $F$ en todas las poblaciones***

El Criollo Colombiano tiene antecedente de haberse cruzado con razas cebuinas (Sastre y col., 2003), sin embargo el  $F_{is}$  obtenido no es diferente de cero. En este caso, el  $F_{is}$  indica que hay equilibrio entre las frecuencias alélicas y genotípicas. Si se produjo una migración en el pasado, como la introducción del Cebú, después de un número suficiente de generaciones, la población vuelve al equilibrio Hardy-Weinberg contando en su acervo genético el inmigrante, en este caso el Cebú. Si la introducción del Cebú se realizó recientemente, entonces se manifiesta el desequilibrio. Dentro de las poblaciones españolas, tres mostraron un valor de  $F_{is}$  alto ( $P < 0.05$ ); esto se debió probablemente, a que hay migración de otras razas a hacia estas poblaciones.

El  $F_{st}$  calculado en los microsatélites para las 22 poblaciones fue más alto (0.125), aunque era previsible pues existe gran diversidad entre las poblaciones estudiadas. Este valor fue más alto al que obtuvieron en razas taurinas (3) e indicas (9) de Camerún y Nigeria con 16 microsatélites de 0.06 (Ibeagha-Awemu y Erhardt, 2005). En el estudio de MacHugh y col. (1998) en siete razas europeas y con 20 microsatélites obtuvieron un valor de 0.112, ligeramente inferior al de este trabajo El  $F_{st}$  obtenido en 18 razas europeas locales de España Portugal y Francia utilizando 16 microsatélites fue de 0.07 (Cañon y col., 2001). El valor de  $F_{st}$  de este estudio fue alto, debido al número de poblaciones, a que involucra varios países, además de considerar tres razas cebuinas, aunque probablemente. Este alto valor de diferenciación genética indica que aunque entre algunas de las poblaciones estudiadas hay similitud, en su conjunto pueden considerarse varios grupos diferentes como se demuestra en los otros análisis (Correspondencia y de Asignación individual).

### ***Cuello de botella.***

En las poblaciones que no han sufrido un cuello de botella y mantienen el equilibrio entre mutación y deriva, la Heterocigosidad esperada ( $H_{eq}$ ) será igual a la del equilibrio Hardy-Weinberg ( $H_e$ ), pero si la población ha sufrido un cuello de botella reciente, el equilibrio de la mutación y deriva se rompe temporalmente y la Heterocigosidad medida en un locus ( $H_e$ ), excederá la Heterocigosidad en equilibrio ( $H_{eq}$ ) computada a partir del número de alelos. El cuello de botella genera un exceso de Heterocigosidad debido a que generalmente los alelos raros se pierden más rápido que la Heterocigosidad (Cornuet y Luikart, 1996), por lo que las pérdidas en el cuello de botella tienen más impacto en la pérdida de alelos que en la de Heterocigosidad. La inmigración reciente, puede ser una fuente de error particularmente importante. Esto lo es más, cuando los inmigrantes vienen de una población genéticamente divergente,



debido a que esos inmigrantes podrían incrementar rápidamente el número de alelos raros en la población, sin afectar sustancialmente la Heterocigosidad enmascarando en incremento o decremento del tamaño de población. Un sesgo similar podría darse si la muestra incluye individuos de dos o más poblaciones (población subestructurada) o híbridos entre poblaciones. Otra fuente de error es la presencia no detectada de alelos nulos en algunos *loci*. Todas estas situaciones pueden ser detectadas realizando previamente la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg o la significancia de los estadísticos Fis (Cornuet y Luikart, 1996).

No se pudo demostrar el efecto fundador o de cuello de botella en las poblaciones criollas analizadas. Lo que pudo haber sido por la incorporación de alelos nuevos, como puede ser en este caso, la migración descarta parcialmente los supuestos de las pruebas de detección.

## **Diferenciación Genética**

### **Análisis Factorial de Correspondencia**

Este análisis reveló que las poblaciones de Criollo Mexicano del norte (Baja California, Chihuahua y Nayarit) se agruparon en un mismo cuadrante y en el mismo lado izquierdo pero en el cuadrante superior se ubicó el Criollo de Puebla, lo que denota la mayor cercanía del poblano con las poblaciones del norte. En el lado derecho y más disperso se ubicó el Criollo de Chiapas, más distante de las otras poblaciones mexicanas. Este resultado se corresponde con el obtenido en las distancias genéticas (Tablas 14 y 15), donde se manifiesta la mayor distancia entre el Criollo de Chiapas con las demás poblaciones. El porcentaje de variación explicada por los ejes es inferior al que se ha encontrado en un estudio con razas nórdicas (Li y col., 2005), pero ligeramente superior al obtenido en la diferenciación de 4 razas autóctonas italianas donde se incluyeron Holstein y Suizo Pardo naturalizadas en Italia (Negrini y col., 2006) y al realizado con varias poblaciones criollas y el Criollo de Guadalupe, aunque realizado con marcadores bioquímicos (Naves y col., 2005).

Con este análisis se detectaron mejor algunas de las similitudes y diferencias entre los Criollos Mexicanos. Coincide con las etapas de introducción de los bovinos en México que corresponde a la Figura 1 (Guevara y Lira-Noriega, 2004), en la cual durante la primera fase en el siglo XVI, sólo abarcó desde el Golfo de México, hasta los Estados del Océano Pacífico, de Oaxaca y parte de Guerrero. Esta primera fase queda representada por el Criollo Poblano. Esta región de México es probablemente desde el punto de vista geográfico la más accidentada y por lo visto, la que ha provocado más subdivisiones en la población bovina. La segunda etapa de introducción de bovinos durante el siglo XVII se dio en los estados que comprenden el altiplano mexicano, la zona costera norte del Océano Pacífico y la parte sur de los estados colindantes con Estados Unidos, está representada por la población de Criollo de Nayarit. Y finalmente los estados del norte de México que se representan con los Criollos de Chihuahua y Baja California. La introducción de bovinos en el sur de México está representada por el Criollo de Chiapas, que por las características climáticas de trópico húmedo, hacen que la composición genética de estos animales sea diferente.

El análisis de Correspondencia donde se incluyeron todas las poblaciones (Figura 5) mostró una agrupación congruente, diferenciando claramente las poblaciones *Bos indicus*, las Canarias, Criollas Mexicanas, Hereford y las que tienen influencia de Cebú. Resulta interesante la agrupación de las poblaciones españolas y exóticas con las criollas suramericanas con excepción del Criollo Argentino, que muestra una gran cercanía con el Hereford, que seguramente ya forma parte del material genético de esta población. Los resultados encontrados sin las poblaciones cebuinas, no cambiaron en esencia, aunque la variabilidad explicada por los ejes es mucho menor que cuando se utilizaron las cebuinas; probablemente se debe a que las poblaciones estudiadas están muy relacionadas. Se notan las mismas agrupaciones pero se

aprecia que existe una fuerte relación entre la Marismeña, Pajuna y Berrenda en Colorado, que a su vez están cercanas a las exóticas Holstein y Suizo Pardo, probablemente debido a su origen europeo continental, que las separa de las británicas. Este resultado es similar al encontrado por Naves y col. (2005), quienes utilizando razas británicas, francesas e ibéricas con criollos americanos, encontraron resultados similares. La separación de la raza Hereford respecto a todas las demás poblaciones se observó también como en este trabajo.

### **Diferenciación Genética de las poblaciones Criollas Mexicanas**

En este apartado se consideraron tres enfoques, el primero fue suponiendo que no existe ninguna estructura, el segundo de acuerdo al cluster filogenético, es decir de acuerdo a la rama en que se colocan al hacer un árbol filogenético [(C. de Chihuahua, C de Baja California); (C. de Chiapas); (C. de Nayarit) y (C. Poblano)] y el tercero, de acuerdo a la localización geográfica [(C. de Chiapas); (C. Poblano); (C. de Nayarit, C. de Chihuahua y C. de Baja California)]. En los tres análisis la diferencia entre poblaciones resultó pequeña y las que detectaron mejor la estructura fueron la del cluster filogenético (1.43%) y la geográfica (1.06%), aunque ambos valores son muy bajos comparados con el 7% encontrado entre poblaciones de Criollo Argentino (Giovambattista y col., 2001), aunque el muestreo en ese trabajo, estuvo sesgado pues se basaron en poblaciones que no estaban emparentadas en las dos generaciones previas, sin que esto refleje la realidad de la población. Esto puede corroborarse también con el valor de Fis (0.076) que indica que la diferencia dentro de poblaciones es mayor a la diferencia entre poblaciones. Este resultado es notorio porque se consideraron cinco poblaciones distribuidas a lo largo México. En estudios realizados con poblaciones que se formaron a base de selección de características específicas, como es el caso de las razas británicas, el porcentaje de diferenciación entre poblaciones detectado fue de 13% aun cuando la superficie en la que se distribuyen las razas es más pequeña (Wiener y col., 2004). o con bovinos europeos en general del 11% (MacHugh y col., 1998). En el trabajo realizado por Cañón y col (2001) la diferencia entre países fue de 6.1%. En razas cebuinas la diferenciación también se ha estimado en 11% aproximadamente (Metta y col., 2004; Sodhi y col., 2005). El proceso de selección más intenso comenzó en Inglaterra en el siglo XVIII y más tarde en el resto de Europa y la diferenciación entre razas es mayor, aun dentro de superficies más pequeñas. En general, cuando se realizan este tipo de estudios en poblaciones que no se han seleccionado para alguna característica en particular, la diferenciación entre poblaciones es pequeña. Como el caso de un estudio realizado con las poblaciones de búfalos de la India, también la diferencia entre poblaciones agrupadas por su localización geográfica fue pequeña (2.18%) (Kumar y col., 2006). O en bovinos de África con 6% (Ibeagha-Awemu y Erhardt, 2005). Y en los bovinos Criollos de Colombia con Fst de 3.5% (Sastre y col., 2003). Lo anterior indica que las poblaciones criollas de México podrían considerarse como una población estructurada geográficamente entre los lugares en donde se tomaron las muestras. Las poblaciones del Norte (Criollos de Nayarit, Chihuahua y Baja California), del centro (Criollo Poblano) y del sur (Criollo de Chiapas). Este resultado está relacionado con las etapas de introducción de bovinos en México durante los siglos XVI y XVII, además de la introducción de bovinos por la parte de Centroamérica. Actualmente, México exporta aproximadamente 35 mil bovinos Criollos de rodeo, procedentes de los estados de Baja California Sur, Chiapas, Chihuahua, Durango, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Veracruz y Zacatecas, con edades entre 8 y 20 meses, los precios fluctúan de 350 a 450 dólares por animal. En años recientes se creó la Asociación de Criadores de Ganado Criollo Mexicano, que en 1995 obtuvo el reconocimiento de la Confederación Nacional Ganadera (SAGARPA, 2002b) que considera exclusivamente el registro de animales del estado

de Chihuahua. La posible incorporación al libro genealógico de animales provenientes del norte el territorio mexicano donde aun existen bovinos Criollos, podría favorecer el control del mercado de exportación y realizar un programa de selección con fines de obtener animales fenotípicamente valorados para las ferias y rodeos, tanto nacionales como en el extranjero.

Los Criollos Mexicanos desde el punto de vista de diferenciación genética, se pueden clasificar como una raza con tres tipos, de acuerdo a su distribución geográfica: los del Norte, Centro y Sur que podrían gestionarse como tres poblaciones.

### **Diferenciación Genética entre las Poblaciones Criollas Mexicanas y las demás.**

En este caso el análisis se realizó agrupando las Criollas Mexicanas y valorando su diferenciación con Cebuinas, Canarias, Españolas, Exóticas y Criollas suramericanas. El ordenamiento lógico de la diferenciación entre los distintos grupos era de esperarse, la mayor diferencia se encontró con las razas cebuinas (10.83%), pues se consideran dos subespecies diferentes (*Bos taurus* y *Bos indicus*). Después la mayor diferencia es con las razas de las Islas Canarias, que probablemente tuvieron mayor influencia de poblaciones del norte de España (Beteta Ortiz, 1997) y Norte de África (Primo, 1992). La diferenciación con las razas españolas (1.13%) es pequeña y similar con las razas exóticas (1.51%), lo que manifiesta la influencia que han tenido ambos grupos, el primero en la formación de los Criollos y el segundo en su presencia en las últimas décadas, principalmente durante los últimos 150 años en que se ha procurado el “mejoramiento” de dichas poblaciones (Carvajal-Carmona y col., 2003; Tewolde, 1997). Por otra parte, la mayor similitud encontrada con otras poblaciones criollas de América corrobora que los análisis realizados se ajustan a la realidad, pues era de esperarse que los Criollos de Suramérica fueran similares a los Criollos de México.

Por otra parte, se han encontrado indicios del posible origen mixto de las poblaciones criollas de América, en donde participa también poblaciones *Bos taurus* africanas hasta en un 32.4%, esto se ha demostrado en los Criollos de Colombia y Argentina a través de ADN mitocondrial (Liron y col., 2006). Aunque el origen de esta proporción africana tiene dos fuentes, una por parte del ganado procedente del sur de España (Miretti y col., 2004) y otra que probablemente procede directamente de África, encontrada en animales del caribe (Magee y col., 2002).

A pesar de que cuantitativamente existen diferencias entre los bovinos Criollos Mexicanos y las poblaciones españolas, exóticas y Criollos suramericanos, la proximidad con estos últimos grupos es muy estrecha, corroborando los resultados del Análisis Factorial de Correspondencia, donde se detecta también una mayor diferencia con las poblaciones canarias y cebuinas. Lo que no puede corroborarse con este tipo de análisis en la mayor cercanía de las poblaciones Criollas de Suramérica con las españolas que si se manifiesta en el Análisis de Correspondencia.

### **Distancias genéticas**

Los microsatélites han sustituido a otros polimorfismos bioquímicos para la medición de las distancias genéticas, principalmente por su alto promedio de Heterocigosidad por locus y que potencialmente tienen más *loci* que otro tipo de marcadores bioquímicos, lo que permite obtener una mejor resolución en la discriminación entre poblaciones muy relacionadas. Sin embargo, debido a que el mecanismo de mutación se conoce parcialmente, los métodos de distancia muestran resultados ligeramente diferentes, que no hacen fácil la elección del método más adecuado.

Todos los métodos de distancias genéticas suponen no-migración y un tamaño de población constante, y serán muy eficientes con poblaciones pequeñas, grandes tamaños de muestra, numerosos *loci* y bajos niveles de divergencia (Richard y Thorpe, 2001). Entre las poblaciones criollas del estudio se supone una baja migración pero las

poblaciones exóticas de México han influido en forma importante en la erosión de recursos genéticos.

Las distancias utilizadas y el  $F_{st}$  por pares de poblaciones prácticamente miden lo mismo como se demuestra en la Tabla 17. El trabajo realizado por Cañón y col. (2001), mostró resultados similares en cuanto al rango de la correlación de Spearman cuando compararon la distancia de Reynolds y el  $F_{st}$  para pares de poblaciones. Otros autores han calculado correlaciones no significativas entre las distancias geográficas y el  $F_{st}$  (Chikhi y col., 2004; Jordana y col., 2003; Maudet y col., 2002). El número de migrantes es otro indicador de la diferenciación genética que presenta correlación negativa significativa con todas las distancias genéticas calculadas ( $P < 0.05$ ) y coincidieron en que las razas cebuinas son las más distantes del resto de las poblaciones, al igual que resultó con los análisis de AMOVA. Después de las razas cebuinas la Hereford fue la más distante de las demás poblaciones y esto fue consistente en todos los métodos de distancia evaluadas. En el caso del  $F_{st}$ , la población Hereford resulta muy cercana al Criollo Colombiano, esto solo se observó en este método. Por la semejanza con los datos históricos de las poblaciones estudiadas, la  $D_A$  de Nei, parece ser la más consistente, pues en el caso de las poblaciones Criollas suramericanas y la Hereford muestran mayor similitud y en el caso particular del Criollo Uruguayo se nota su probable influencia de Holstein. Dentro de los Criollos Mexicanos, se detecta la probable introgresión de genes cebuinos en los Criollos de Chiapas y Nayarit y una mezcla de varias razas en el Criollo Poblano, con fuerte influencia de Suizo Pardo, aunque estos resultados no se respaldan por los otros análisis realizados. Lo único que parece evidente es la influencia de Cebú en el Criollo de Chiapas.

### **Árboles filogenéticos**

Sin duda los árboles filogenéticos han sido de gran utilidad en la visualización de las relaciones genéticas entre las poblaciones bovinas, sin embargo, en este estudio han existido muchas inconsistencias. Esto se debe probablemente a que algunas de las poblaciones están mezcladas o son genéticamente similares y eso aumenta el número de arreglos topológicos posibles, por tanto, solo existe consistencia en las divisiones entre las poblaciones bien diferenciadas. También hay que tomar en consideración, que el valor de remuestreo (bootstrapping) es bajo, cuando el número de poblaciones es elevado y las ramas cortas (Alfaro y col., 2003); estos autores recomiendan utilizar el valor de remuestreo, para verificar que el resultado es aceptable. En este caso, donde se analizaron varias poblaciones similares (los Criollos Mexicanos), los árboles filogenéticos tienen poca consistencia para llegar a conclusiones contundentes.

Los árboles filogenéticos mostraron inconsistencias que se reflejan en el bajo valor de remuestreo; lo único consistente es la separación entre las poblaciones taurinas y las indianas, donde el porcentaje de remuestreo es de 100. Aunque con un valor más bajo, también se agrupan las poblaciones de Criollo de México. Sin embargo, en todos los casos se agrupan en posición diferente. Cabe destacar que los Criollos de Chiapas y de Colombia se agrupan siempre cercanos al Holandocebú o a las razas cebuinas, lo que puede indicar que tiene influencia de *Bos indicus*. En el caso del Criollo de Nayarit esto es menos evidente.

En el tema de la raza Hereford, no se agrupa en forma consistente, en las Figura 7 y 9 se diferencia de todas las demás poblaciones, en la Figura 8 se coloca entre los Criollos Mexicanos y la Palmera; en la Figura 10 se localiza junto con los Criollos Uruguayo y Argentino y en la Figura 11 junto a la raza Marismeña. Con estos resultados resulta difícil aventurar conclusiones respecto a la probable influencia de otras razas en las poblaciones de México. Lo más destacable es la estrecha relación que existe entre los Criollos Mexicanos.

Basándose en valores de remuestreo superiores al 75%, los árboles filogenéticos explican poco en las relaciones genéticas de las poblaciones estudiadas. Únicamente se puede decir que las razas cebuinas están bien diferenciadas, entre ellas y con respecto a las poblaciones taurinas. No son una herramienta aconsejada en el caso de analizar muchas poblaciones con poca diferenciación, o que existan indicios de migración.

## ***Asignación de individuos a poblaciones con métodos multilocus***

### **Estructura de la Población Criolla Mexicana.**

Los resultados del programa GeneClass son también de poca utilidad, pues el porcentaje de animales correctamente asignados es bajo, aun en las poblaciones de referencia. En un estudio similar también obtuvieron valores de asignación correctos entre 55 y 70% (Talle y col., 2005b). Sin embargo las poblaciones cebuinas parecen estar mejor definidas y su porcentaje correcto de asignación es mayor.

Uno de los problemas de este método, es que se requiere tener una muestra de cada población base o modelo, que considere como referencia. Si la muestra es errónea, entonces todos los resultados tendrán que ser desechados. Por otra parte, cuando el número de poblaciones es grande, los resultados son confusos, pues existe un gran número de individuos que son asignados a varias poblaciones, probablemente por la poca diferenciación genética o por el gran número de poblaciones. Estos resultados son similares a los obtenidos por Talle y col. (2005b), en los que utilizando 27 microsatélites lograron la correcta asignación de únicamente del 55 al 75% de los individuos. También en el caso de las razas francesas con 23 microsatélites se obtuvo un bajo porcentaje de asignación correcta, además de que la fiabilidad disminuye conforme se aumenta el umbral del nivel de confianza (Maudet y col., 2002). Este método es utilizado para asignar muestras de individuos a poblaciones en casos de trazabilidad de productos, por lo tanto, el poder que muestra en el caso de las poblaciones de este estudio es bajo. Solo permitiría decir con un bajo porcentaje de fiabilidad, que los individuos pueden pertenecer a varias poblaciones.

Es importante resaltar que probablemente muchas de las poblaciones criollas de América tengan una fuerte influencia cebuina pues tan solo en Brasil, desde principios del siglo XIX hasta 1960, se estima que se han importado más de 7,000 animales de la India (Meirelles y col., 1999). Esto es cierto en algunas poblaciones pero en otras no se ha podido demostrar como es el caso de la población del Criollo Venezolano Carora (Ceriotti y col., 2003). Sin embargo, en un estudio hecho por Giovanbattista y col. (2000) en donde muestrearon varias poblaciones de Suramérica basados en la morfología del cromosoma Y además de un haplotipo propio de los machos Cebú, detectaron introgresión de animales cebuinos en las poblaciones de los Criollos Chaqueño, Yacumeño y Saavedreño, en Bolivia; y Caracu, Curraleiro y Lageano, en Brasil. En los Criollos de Argentina y Uruguay, no se detectó influencia cebuina. En los bovinos Criollos de la Islas del Caribe, también se ha detectado la introgresión de razas cebuinas además de la influencia de razas africanas (Magee y col., 2002; Miretti y col., 2004), al igual que en poblaciones de bovinos Criollos colombianos, cubanos y de la Isla de Guadalupe (Naves y col., 2005; Sastre y col., 2003). Durante el siglo pasado, el ganado Criollo en general, sufrió una drástica reducción en el tamaño de la población, una considerable subdivisión en hatos pequeños y una fuerte introgresión, principalmente de razas cebuinas (Liron y col., 2002).

Con los resultados obtenidos con el método de Pritchard y col. (2000), parece ser que se aclaran muchas dudas que se produjeron con los análisis anteriores. Primero, se detecta que las poblaciones Criollas de México comparten una base genética, aunque

en distintas proporciones (Tabla 22), como se manifiesta en los clusters uno y cuatro. Esto puede ser producto de uno o varios de los factores siguientes:

- a) Que haya algún tipo de migración entre las poblaciones,
- b) Que alguna otra población común haya introgresado en ellas,
- c) Que no se haya considerado en este estudio alguna población que sea una base común que comparten desde su llegada a América,
- d) Que el constante cruzamiento con razas exóticas, produzca un cluster que no pueda ser asignado a alguna población en particular y genere un cluster diferente.

Por otra parte, el Criollo de Chiapas se asigna mayoritariamente al cluster 2 (Tabla 22). Es probable que la población de Chiapas se haya mezclado en épocas recientes con alguna raza cebuina, pues se detectan un 24.3% del genoma con ese tipo, además, dentro de las consistencias de los árboles filogenéticos, los Criollos de Chiapas se agrupan cerca de las poblaciones cebuinas, y los resultados del  $F_{st}$  (Tabla 16) con relación al Gyr son los más bajos entre todas las razas taurinas y esta con Holandocebú, la magnitud de la diferencia es similar a la que existe entre los mismos Criollos.

En cuanto al Criollo Poblano que es el que se asigna al cluster 5, comparte parte de su genoma con el Criollo de Chihuahua. El Criollo Poblano muestra un valor de  $F_{is}$  elevado de 0.137 lo que indica que esta población puede estar subdividida.

En la Figura 12 se aprecia que las poblaciones Criollas del norte de México (Baja California, Chihuahua y Nayarit) comparten en mayor proporción el cluster amarillo, y aunque en el Chiapaneco y Poblano también lo comparten, hay una mayor proporción de color rosa en el Poblano y verde en el de Chiapas. Esto concuerda con los resultados de los análisis Factorial, AMOVA y de distancias en los que los Criollos de Baja California, Nayarit y Chihuahua están más relacionados, estando los de Chiapas y el Poblano más separados de los tres anteriores. Será necesario hacer algún análisis específico que corrobore la inclusión de una proporción de Cebú en el Criollo de Chiapas, aunque los resultados de los análisis realizados parecen definitivos como se aprecia en la Figura 13. Además de que las características climáticas del estado de Chiapas hacen muy probable que una proporción de Cebú aumente la viabilidad de estos animales. Sin embargo, cuando se visualizan todas las poblaciones (Figura 14), resalta que los Criollos Mexicanos no presentan la uniformidad de las razas bien diferenciadas como se aprecia en las Cebuinas o en las exóticas. Aun en los Criollos Uruguayo, Argentino y Patagónico, se aprecia esa uniformidad. Dentro de las razas españolas únicamente la Marismeña es la que presenta esa uniformidad. Este método de Pritchard y col. (2000) ha demostrado ser útil en la identificación de poblaciones bovinas mezcladas (Kumar y col., 2003).

El análisis más detallado que se presenta en las Figuras 15 y 16, ayuda a interpretar mejor los resultados. De las 22 poblaciones estudiadas, el programa Structure solo es capaz de diferenciar 14. En este análisis global, las poblaciones cebuinas se mantienen como una sola y las Criollas de México, se presentan como una población más uniforme, con excepción del Criollo de Chiapas. Y se muestran mucho más homogéneas que las razas Pajuna y las Berrendas en Negro y Colorado. La población mezcla de Cebú con *Bos taurus*, se aprecia mezclada al igual que el Criollo de Chiapas. Aun cuando los Criollos Mexicanos (a excepción del Chiapas) presentan una pequeña proporción de otros clusters, ninguno es significativo o representa la influencia de otra población. Por lo tanto, se puede considerar que las poblaciones de Bovino Criollo de México forman una raza única con variedades de acuerdo a su ubicación geográfica, destacando que además esta diferenciación viene dada desde su introducción en México. Dado que el Criollo de Chiapas, presenta en su genotipo cierta proporción de Cebú, se puede afirmar que la selección natural ha propagado las proporciones más adecuadas de *Bos taurus* y *Bos indicus* para sobrevivir en las condiciones extremas de los altos de Chiapas, donde la alimentación es escasa y la climatología extrema. Por otra parte, el Criollo Poblano aún cuando se presenta como

una población subdividida, en esencia comparte el mismo genotipo que los demás criollos de México.





## CONCLUSIONES

---

La diferenciación genética detectada por los métodos de AMOVA, Factorial de Correspondencia y Structure, es consistente y concluyente comparada con los análisis de distancias genéticas y árboles filogenéticos en poblaciones estrechamente relacionadas.

La documentación histórica sobre la introducción y distribución de los bovinos Criollos a México puede fundamentarse con los hallazgos logrados con los marcadores microsatélites. Durante el siglo XVI en el centro de México, en el siglo XVII su distribución por el norte y la llegada de bovinos Criollos por Centroamérica.

Los Bovinos Criollos Mexicanos son poblaciones que muestran una estructura genética común que podría considerarse como una sola, con algunas diferencias en cada región geográfica, producto de la introgresión de otras razas, que a pesar de ello, no los hace perder su identidad.

Los Bovinos Criollos Mexicanos se muestran más cercanos genéticamente a las poblaciones *Bos taurus* y muy diferentes a las cebuinas, aunque existe cierta influencia de en regiones de México.

La estructura de las poblaciones Bovinos Criollos de México no muestra influencia de las razas exóticas Suizo Pardo, Holstein o Hereford.

Las poblaciones de Bovinos Criollos de México son mas parecidas a las otras poblaciones Criollas de América que a las razas españolas

La Asociación de Criadores de Ganado Criollo Mexicano, podría incorporar al libro genealógico animales provenientes de todo el territorio mexicano donde aun existen bovinos Criollos, clasificando en tres subtipos diferentes de acuerdo a la ubicación geográfica, lo que permitiría aumentar el tamaño de la población con posibilidad de hacer programas de selección para varias características zootécnicas.



## LITERATURA CITADA

---

- Achukwi, M. D., V. N. Tanya, E. W. Hill, D. G. Bradley, C. Meghen, B. Sauveroche, J. T. Banser y J. N. Ndoki. 1997. Susceptibility of the Namchi and Kapsiki cattle of Cameroon to trypanosome infection. *Tropical Animal Health and Production* 29: 219-226.
- Adeyemo, A. A., G. H. Chen, Y. C. Chen y C. Rotimi. 2005. Genetic structure in four West African populations groups. *BMC Genetics* 6: 38-46.
- Aguilar Robledo, M. 1991. Reses, indios y poder: notas introductorias a la historia de la ganadería en la Huasteca Potosina. *Cuadrante* 56: 78-94.
- Ajmone-Marsan, P., R. Negrini, P. Crepaldi, E. Milanese, C. Gorni, A. Valentini y M. Cicogna. 2001. Assessing genetic diversity in Italian goat populations using AFLP markers. *Animal Genetics* 2: 281-288.
- Alfaro, M. E., S. Zoller y F. Lutzoni. 2003. Bayes or Bootstrap? A Simulation Study Comparing the Performance of Bayesian Markov Chain Monte Carlo Sampling and Bootstrapping in Assessing Phylogenetic Confidence. *Molecular Biology and Evolution* 20: 255-266.
- Alves, B. C., M. M. Unanian, E. Silva, M. Oliveira y C. A. Moreira-Filho. 2005. Use of RAPD markers for identifying Nelore bulls with early reproductive maturation onset. *Animal Reproduction Science* 85: 183-191.
- Andersson, L. 2001. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nat Rev Genet* 2: 130-138.
- Anderung, C., A. Bouwman, P. Persson, J. M. Carretero, A. I. Ortega, R. Elburg, C. Smith, J. L. Arsuaga, H. Ellegren y A. Gotherstrom. 2005. Prehistoric contacts over the Straits of Gibraltar indicated by genetic analysis of Iberian Bronze Age cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102: 8431-8435.
- Arcos-Burgos, M. y M. Muenke. 2002. Genetic of populations isolates. *Clinical Genetics* 61: 233-247.
- Armstrong, E., A. Postiglioni, A. Martinez, G. Rincon y J. L. Vega-Pla. 2006. Microsatellite analysis of a sample of Uruguayan Creole bulls (*Bos taurus*). *Genetics and Molecular Biology* 29: 267-272.
- Ashwell, M. S., C. E. Rexroad, Jr., R. H. Miller y P. M. VanRaden. 1996. Mapping economic trait loci for somatic cell score in Holstein cattle using microsatellite markers and selective genotyping. *Animal Genetics* 27: 235-242.
- Balakrishnan, V. y L. D. Sanghvi. 1968. Distance between populations on the basis of attribute data. *Biometrics* 24: 859-865.
- Balloux, F., H. Brünner, N. Lugon-Moulin, J. Hausser y J. Goudet. 2000. Microsatellites can be misleading: an empirical and simulation study. *Evolution* 54: 1414-1422.
- Balloux, F. y N. Lugon-Moulin. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology* 11: 155-165.
- Bamshad, M., S. Wooding, B. A. Salisbury y C. Stephens. 2004. Deconstructing the relationship between genetics and race. *Nature Reviews Genetics* 5: 598-609.
- Bamshad, M. J. y S. E. Olson. 2003. Does race exist? *Scientific American* 289: 78-85.
- Barbujani, G. 1997. DNA variation and language affinities. *American Journal of Human Genetics* 61: 1011-1014.

- Barbujani, G. 2000. Geographical patterns how to identify them and why. *Human Biology* 72: 133-153.
- Barendse, W., S. M. Armitage, L. M. Kossarek, A. Shalom, B. W. Kirkpatrick, A. M. Ryan, D. Clayton, L. Li, H. L. Neibergs, N. Zhang, W. M. Grosse, J. Weiss, P. Creighton, F. McCarthy, M. Ron, A. J. Teale, R. Fries, R. A. McGraw, S. S. Moore, M. Georges, M. Soller, J. E. Womack y D. J. S. Hetzel. 1994. A genetic linkage map of the bovine genome. *Nature Genetics* 6: 227-235.
- Barker, J. S. F., D. G. Bradley, R. Fries, W. G. Hill, M. Nei y R. K. Wayne. 1993. An integrated global programme to establish the genetic relationships among the breeds of each domestic animal species, Report to the Food and Agriculture Organization of the United Nations., Roma.
- Baron, E. E., M. L. Martinez, R. S. Verneque y L. L. Coutinho. 2002. Parentage testing and effect of misidentification on the estimation of breeding value in Gir cattle. *Genetics and Molecular Biology* 25: 389-394.
- Baudouin, L. y P. Lebrun. 2001. An operational bayesian approach for the identification of sexually reproduced cross-fertilized populations using molecular marker. In: *Proceedings International Symposim on Molecular Markers*. p 81-94.
- Baudouin, L., S. Piry y J. M. Cornuet. 2004. Analytical bayesian approach for assigning individuals to populations. *Journal of Heredity* 95: 217-224.
- Baumung, R., H. Simianer y I. Hoffmann. 2004. Genetic diversity studies in farm animals - a survey. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 121: 361-373.
- Beckmann, J. S. y J. Weber. 1992. Survey of human and rat microsatellites. *Genomics* 12: 627-631.
- Beever, J. E., Y. Da, M. Ron y H. A. Lewin. 1994. A genetic-map of 9 loci on bovine chromosome-2. *Mammalian Genome* 5: 542-545.
- Belkhir, K., P. Borsa, L. Chikhi, N. Raufaste y F. Bonhomme. 2003. Genetix: 4.05 Logiciel sous Windows<sup>TM</sup> pour la genetique des populations. In: U. d. Montpellier (ed.). *Laboratoire Genoma Populations, Interactions, Adaptations*, Montpellier, France.
- Bensch, S. y M. Akesson. 2005. Ten years of AFLP in ecology and evolution: why so few animals? *Molecular Ecology* 14: 2899-2914.
- Beteta Ortiz, M. 1997. Las razas autóctonas españolas y su participación en los bovinos criollos iberoamericanos. In: *Symposium sobre Utilización de Razas y Tipos Bovinos Creados y Desarrollados en Latinoamérica y el Caribe*, Maracaibo, Venezuela, 24-28 de noviembre
- Beteta Ortiz, M. 1999. Llegada del vacuno español a Suramérica Historia de la Veterinaria. Real Academia de Ciencias Veterinarias, Madrid, España.
- Bishop, M. D., G. A. Hawkins y C. L. Keefer. 1995. Use of DNA markers in animal selection. *Theriogenology* 43: 61-70.
- Bishop, M. D., S. M. Kappes, J. W. Keele, R. T. Stone, S. L. Sunden, G. A. Hawkins, S. S. Toldo, R. Fries, M. D. Grosz, J. Yoo y C. W. Beattie. 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics* 136: 619-639.
- Bjorklund, M. 2005. A method for adjusting allele frequencies in the case of microsatellite allele drop-out. *Molecular Ecology Notes* 5: 676-679.
- Blin, N. y D. W. Stafford. 1976. Isolation of high molecular weight DNA. *Nucleic Acid Research* 3: 2303-2308.
- Bobrow-Strain, A. 2005. Articulations of rule: landowners, revolution, and territory in Chiapas, Mexico, 1920 -1962. *Journal of Historical Geography* 31: 744-762.
- Bonin, A., E. Bellemain, P. Bronken Eidesen, F. Pompanon, C. Brochmann y P. Taberlet. 2004. How to track and assess genotyping errors in population genetics studies. *Molecular Ecology* 13: 3261-3273.
- Botstein, D., R. I. White, M. Skolnich y R. W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics* 32: 324-331.

- Bovenhuis, H., J. A. M. Van Arendonk y S. Korver. 1992. Associations between milk protein polymorphisms and milk production traits. *Journal of Dairy Science* 75: 2549-2559.
- Bowcock, A. M., A. Ruiz-Linares, J. Tomfohrde, E. Minch, J. R. Kidd y L. L. Cavalli-Sforza. 1994. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature* 368: 455-457.
- Bradley, B. J. y L. Vigilant. 2002. False alleles derived from microbial DNA pose a potential source of error in microsatellite genotyping of DNA from faeces. *Molecular Ecology Notes* 2: 602-605.
- Bradley, D. G., R. T. Loftus, P. Cunningham y D. E. MacHugh. 1998. Genetics and domestic cattle origins. *Evolutionary Anthropology* 6: 79-86.
- Bradley, D. G., D. E. MacHugh, P. Cunningham y R. T. Loftus. 1996a. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93: 5131-5135.
- Bradley, E., E. Halloran y S. Holmes. 1996b. Bootstrap confidence levels for phylogenetic trees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93: 7085-7090.
- Bravi, C. M., J. P. Liron, P. M. Mirol, M. V. Ripoli, P. Peral-Garcia y G. Giovambattista. 2004. A simple method for domestic animal identification in Argentina using PCR-RFLP analysis of cytochrome b gene. *Legal Medicine* 6: 246.
- Bredbacka, P. y M. T. Koskinen. 1999. Microsatellite panels suggested for parentage testing in cattle: Informativeness revealed in Finnish Ayrshire and Holstein-Friesian populations. *Agricultural and Food Science in Finland* 8: 233-237.
- Brezinsky, L., S. J. Kemp y A. J. Teale. 1993a. Five polymorphic bovine microsatellites (ILSTS010-014). *Animal Genetics* 24: 75-76.
- Brezinsky, L., S. J. Kemp y A. J. Teale. 1993b. ILSTS006: a polymorphic bovine microsatellite. *Animal Genetics* 24: 73.
- Brinkman, B., M. Klintschar, F. Neuhuber, J. Hühne y F. Burkhard. 1998. Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat. *American Journal of Human Genetics* 62: 1408-1415.
- Bruford, M. W., D. G. Bradley y G. Luikart. 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nature Reviews Genetics* 4: 900-910.
- Butzer, K. W. 1988. Cattle and sheep from old to New Spain: historical antecedents. *Annals of the Association of American Geographers* 78: 29-56.
- Calabrese, P. P., R. T. Durrett y C. F. Aquadro. 2001. Dynamics of microsatellite divergence under stepwise mutation and proportional slippage/point mutation models. *Genetics* 159: 839-852.
- Calabrese, P. P. y R. Sainudiin. 2004. Models of Microsatellite Evolution. In: R. Nielsen (ed.) *Statistical Methods in Molecular Evolution*. Statistics for Biology and Health, Springer.
- Cañon, J., P. Alexandrino, I. Bessa, C. Carleos, Y. Carretero, S. Dunner, N. Ferran, D. Garcia, J. Jordana, D. Laloe, A. Pereira, A. Sanchez y K. Moazami-Goudarzi. 2001. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. *Genetics Selection Evolution* 33: 311-332.
- Cardellino, R. A. 2003. Animal genetic resources conservation and development: the role of FAO. *Archivos de Zootecnia* 52: 185-192.
- Carrazzoni, J. A. 2002. Aventuras y desventuras del vacuno criollo en la época colonial. Taurus, Argentina.
- Carvajal-Carmona, L. G., N. Bermudez, M. Olivera-Angel, L. Estrada, J. Ossa, G. Bedoya y A. Ruiz-Linares. 2003. Abundant mtDNA diversity and ancestral admixture in Colombian Criollo cattle (*Bos taurus*). *Genetics* 165: 1457-1463.
- Cavalli-Sforza, L. L. y W. F. Bodmer. 1971. The genetics of human populations. W. H. Freeman ed, San Francisco, California.
- Cavalli-Sforza, L. L. y W. F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis: Models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics* 19: 233-257.

- Cavalli-Sforza, L. L. y M. W. Feldman. 2003. The application of molecular genetic approaches to the study of human evolution. *Nature Genetics* 33: 266-275.
- Celaya-Nandez, Y. 2003. Producción y mercado ganadero en las fuentes del siglo XVII. *América Latina en la Historia Económica* 20: 25-37.
- Cerioti, G., A. Caroli, R. Rizzi y C. Crimella. 2003. Genetic relationships among taurine (*Bos taurus*) and zebu (*Bos indicus*) populations as revealed by blood groups and blood proteins. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 120: 57-67.
- Cerit, H. 2003. Determination of the allele frequency of some genomic loci in a Holstein cattle population and its importance in individual identification. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences* 27: 81-91.
- Chakraborty, R. y L. Jin. 1993a. Determination of relatedness between individuals using DNA fingerprinting. *Human Biology* 65: 875-895.
- Chakraborty, R. y L. Jin. 1993b. A unified approach to study hypervariable polymorphisms: Statistical considerations of determining relatedness and population distance. In: S. Pena, R. Chakraborty, J. T. Epplenj and A. J. Jeffreys (eds.) *DNA finger-printing: state and the science*, Switzerland.
- Chakraborty, R., M. Kimmel, D. N. Stivers, L. J. Davison y R. Deka. 1997. Relative mutation rates at di-, tri-, and tetranucleotide microsatellite loci. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94: 1041-1046.
- Chikhi, L., B. Goossens, A. Treanor y M. W. Bruford. 2004. Population genetic structure of and inbreeding in an insular cattle breed, the Jersey, and its implications for genetic resource management. *Heredity* 92: 396-401.
- Ciampolini, R., V. Cetica, E. Ciani, E. Mazzanti, X. Fosella, F. Marroni, M. Biagetti, C. Sebastiani, P. Papa, G. Filippini, D. Cianci y S. Presciuttini. 2006. Statistical analysis of individual assignment tests among four cattle breeds using fifteen STR loci. *Journal of Animal Science* 84: 11-19.
- Cockerham, C. 1969. Variance of gene frequencies. *Evolution* 23: 72-84.
- Cockerham, C. 1973. Analysis of gene frequencies. *Genetics* 74: 679-700.
- Cockerham, C. C. y B. S. Weir. 1986. Estimation of inbreeding parameters in stratified populations. *Annales of Human Genetics* 50: 271-281.
- Cornuet, J. M. y G. Luikart. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144: 2001-2014.
- Cornuet, J. M., S. Piry, G. Luikart, A. Estoup y M. Solignac. 1999. New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153: 1989-2000.
- Dallas, J. F. 1992. Estimation of microsatellite mutation rates in recombinant inbred strains of mouse. *Mammalian Genome* 3: 452-456.
- David, L. G., M. D. Dibner y J. F. Battey. 1986. *Basic methods in molecular biology*. Elsevier, New York, USA.
- de Gortari, M. J., B. A. Freking, S. M. Kappes, K. A. Leymaster, A. M. Crawford, R. T. Stone y C. W. Beattie. 1997. Extensive genomic conservation of cattle microsatellite heterozygosity in sheep. *Animal Genetics* 28: 274-290.
- Di Rienzo, A., A. C. Peterson, J. C. Garza, A. M. Valdes y M. Slatkin. 1994. Mutational processes of simple sequence repeat loci in human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 3166-3170.
- Dorji, T., O. Hanotte, M. Arbenz, J. E. O. Rege y W. Roder. 2003. Genetic diversity of indigenous cattle populations in Bhutan: Implications for conservation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 16: 946-951.
- Du, H. Y., K. L. Hak, J. O. Sung, C. H. Ki, G. J. Jeon, S. K. Hong y H. L. Jun. 2005. Genetic relationships of cattle breeds assessed by PCR-RFLP of the bovine mitochondrial DNA D-loop region. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18: 1368.

- Edwards, W. F. y L. L. Cavalli-Sforza. 1963. The reconstruction of evolution. *Heredity* 18: 553.
- Ellegren, H. 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics* 5: 435-445.
- Ellegren, H., S. Moore, N. Robinson, K. Byrne, W. Ward y B. C. Sheldon. 1997. Microsatellite evolution--a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep. *Molecular Biology and Evolution* 14: 854-860.
- Espinoza-Villavicencio, J. L. 2004. Estudio Zoométrico en el ganado bovino criollo de Baja California Sur. XXVIII Congreso Nacional de Buiatria 2004, Morelia, Michoacan. México.
- Excoffier, L., G. Laval y S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1: 47-50.
- Excoffier, L., P. E. Smouse y J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Falush, D., M. Stephens y J. K. Pritchard. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164: 1567-1587.
- FAO. 2004. Secondary Guidelines for development if natural farm animals genetic resources management plans: Measurement of domestic animal diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers. FAO ed, Roma, Italy.
- Farnir, F., W. Coppeters, J. J. Arranz, P. Berzi, N. Cambisano, B. Grisart, L. Karim, F. Marcq, L. Moreau, M. Mni, C. Nezer, P. Simon, P. Vanmanshoven, D. Wagenaar y M. Georges. 2000. Extensive genome-wide linkage disequilibrium in cattle. *Genome Research* 10: 220-227.
- Felsenstein, J. 1978. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading. *Systematic Zoology* 27: 401-410.
- Felsenstein, J. 2004. *Inferring phylogenies*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Fernández, G. 2000. Situación de los recursos genéticos domésticos locales del Uruguay. *Archivos de Zootecnia* 49: 333-340.
- Fernández Haddad, G. 2003. Plan estratégico para las pequeñas empresas ganaderas. Caso: "Ganadería el Pedregal". Tesis de Licenciatura, Universidad de las Américas, Puebla, Cholula, Puebla.
- Frantzen, M. A., J. B. Silk, J. W. Ferguson, R. K. Wayne y M. H. Kohn. 1998. Empirical evaluation of preservation methods for faecal DNA. *Molecular Ecology* 7: 1423-1428.
- Freeman, A. R., D. G. Bradley, S. Nagda, J. P. Gibson y O. Hanotte. 2006. Combination of multiple microsatellite data sets to investigate genetic diversity and admixture of domestic cattle. *Animal Genetics* 37: 1-9.
- Freeman, A. R., C. M. Meghan, D. E. Machugh, R. T. Loftus, M. D. Achukwi, A. Bado, B. Sauveroche y D. G. Bradley. 2004. Admixture and diversity in West African cattle populations. *Molecular Ecology* 13: 3477-3487.
- Gandini, G. C., L. Ollivier, B. Danell, O. Distl, A. Georgoudis, E. Groeneveld, E. Martyniuk, J. A. M. van Arendonk y J. A. Woolliams. 2004. Criteria to assess the degree of endangerment of livestock breeds in Europe. *Livestock Production Science* 91: 173-182.
- Georges, M., A. S. Lequarre, M. Castelli, R. Hanset y G. Vassart. 1988. DNA fingerprinting in domestic animals using four different minisatellite probes. *Cytogenet Cell Genet* 47: 127-131.
- Gerber, S., S. Mariette, R. Streiff, C. Bodenes y A. Kremer. 2000. Comparison of microsatellites and amplified fragment length polymorphism markers for parentage analysis. *Molecular Ecology* 9: 1037-1048.

- Ginja, C. J. 2002. IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS BOVINAS PORTUGUESAS ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES. Tesis de Maestría, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal.
- Giovambattista, G., M. V. Ripoli, J. C. De Luca, P. M. Mirol, J. P. Liron y F. N. Dulout. 2000. Male-mediated introgression of *Bos indicus* genes into Argentine and Bolivian Creole cattle breeds. *Animal Genetics* 31: 302-305.
- Giovambattista, G., M. V. Ripoli, P. Peral-Garcia y J. L. Bouzat. 2001. Indigenous domestic breeds as reservoirs of genetic diversity: the Argentinean Creole cattle. *Animal Genetics* 32: 240-247.
- GlowatzkiMullis, M. L., L. Ritz y C. Gaillard. 1996. PCR - An important step to conclusive paternity in parentage control cases of cattle. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde* 138: 161-166.
- Goldstein, D. B., A. Ruiz bares, L. L. Cavalli-Sforza y M. W. Feldman. 1995a. An evaluation of genetic distances for use with microsatellite Loci. *Genetics* 139: 463-471.
- Goldstein, D. B., A. Ruiz bares, L. L. Cavalli-Sforza y M. W. Feldman. 1995b. Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92: 6723-6727.
- Goldstein, D. B. y C. Schlotterer. 1999. *Microsatellites. Evolution and applications.* Oxford University Press ed, Oxford, Great Britain.
- Gomes, I., A. Collins, C. Lonjou, N. S. Thomas, J. Wilkinson, M. Watson y N. Morton. 1999. Hardy-Weinberg quality control. *Annales of Human Genetics* 63: 535-538.
- González Domínguez, D. 1989. Breve Historia de la Ganadería en Chihuahua. In: L. O. Parada Gonzalez (ed.). *Tecnovet de México, Chihuahua, México.*
- Goodman, M. M. 1973. Genetic distances: measuring dissimilarity among populations. *Yearbook of Physical Anthropology* 17: 1-38.
- Gower, J. C. 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika* 53: 326-338.
- Gregorius y R. H. 1974. Genetischer abstand zwischen populationen. I. Zur konzeption der genetischen abstandsmessung. *Silvae Genetica* 23: 22-27.
- Grigson, C. 1991. An African origin for African cattle? Some archaeological evidence. *The African Archaeological Review* 9: 119-144.
- Grzybowski, G. y B. Prusak. 2004. Genetic variation in nine European cattle breeds as determined on the basis of microsatellite markers. III. Genetic integrity of the Polish Red cattle included in the breeds preservation programme. *Animal Science Papers and Reports* 22: 45-56.
- Guevara, S. y A. Lira-Noriega. 2004. De los pastos de la selva a la selva de los pastos: La introducción de la ganadería en México. *Pastos: En prensa.*
- Guo, S. W. y E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.
- Halbert, N. D., T. J. Ward, R. D. Schnabel, J. F. Taylor y J. N. Derr. 2005. Conservation genomics: disequilibrium mapping of domestic cattle chromosomal segments in North American bison populations. *Molecular Ecology* 14: 2343-2362.
- Handt, O., S. Meyer y A. von Haeseler. 1998. Compilation of human mtDNA control region sequences. *Nucleic Acids Research* 26: 126-129.
- Hanotte, O., D. G. Bradley, J. W. Ochieng, Y. Verjee, E. W. Hill y J. E. Rege. 2002. African pastoralism: genetic imprints of origins and migrations. *Science* 296: 336-339.
- Hanotte, O. y H. Jianlin. 2005. Genetic characterization of livestock populations and its use in conservation decision-making. In: *The Role of Biotechnology, Villa Gualino, Turin, Italia.* p 131-136.
- Hanotte, O., C. L. Tawah, D. G. Bradley, M. Okomo, Y. Verjee, J. Ochieng y J. E. Rege. 2000. Geographic distribution and frequency of a taurine *Bos taurus* and



- an indicine *Bos indicus* Y specific allele amongst sub-saharan African cattle breeds. *Molecular Ecology* 9: 387-396.
- Hanslik, S., B. Harr, G. Brem y C. Schlotterer. 2000. Microsatellite analysis reveals substantial genetic differentiation between contemporary New World and Old World Holstein Friesian populations. *Animal Genetics* 31: 31-38.
- Hayes, B. J., P. M. Visscher, H. C. McPartlan y M. E. Goddard. 2003. Novel multilocus measure of linkage disequilibrium to estimate past effective population size. *Genome Research* 13: 635-643.
- Hearne, C. M., S. Ghosh y J. A. Todd. 1992. Microsatellites for linkage analysis of genetic traits. *Trends in Genetics* 8: 288-294.
- Hernández-Xolocotzi, E. 1998. Aspectos de la domesticación de plantas en México: una apreciación personal. In: T. Ramamoorthy, P., R. Bye, A. Lot and A. Fa (eds.) *Diversidad Biológica de México. Orígenes y Distribución*. p 715-738. Universidad Nacional Autónoma de México. México (México), México, D.F.
- Hernández García, L. 2001. Historia ambiental de la ganadería en México. 1a ed. Coedición entre L'Institut de Recherche pour le Développement, (IRD) y el Instituto de Ecología, A.C. (INECOL), Mexico, D.F.
- Heukeshoven, J. y R. Dernick. 1985. Characterization of a solvent system for separation of water-insoluble poliovirus proteins by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 326: 91-101.
- Hoffman, J. I. y W. Amos. 2005. Microsatellite genotyping errors: detection approaches, common sources and consequences for paternal exclusion. *Molecular Ecology* 14: 599-612.
- Hoffmann, I., P. A. Marsan, J. S. F. Barker, E. G. Cothran, O. Hanotte, J. A. Lenstra, D. Milan, S. Weigend y H. Simianer. 2004. New MoDAD marker sets to be used in diversity studies for the major farm animal species: recommendations of a joint ISAG/FAO working group. In: FAO (ed.) *Biblioteca electrónica relacionada con los Recursos Genéticos Animales y la Estrategia Mundial*, Roma, Italia.
- Huang, D., Q. Yang, C. Yu y R. Yang. 2003. Development of the X-linked tetrameric microsatellite markers HumDXS6803 and HumDXS9895 for forensic purpose. *Forensic Science International* 133: 246-249.
- Ibeagha-Awemu, E. M. y G. Erhardt. 2005. Genetic structure and differentiation of 12 African *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds, inferred from protein and microsatellite polymorphisms. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 122: 12-20.
- International-Human-Genome-Sequencing-Consortium. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921.
- Jasinska, A., G. Michlewski, M. de Mezer, K. Sobczak, P. Kozlowski, M. Napierala y W. J. Krzyzosiak. 2003. Structures of trinucleotide repeats in human transcripts and their functional implications. *Nucleic Acid Research* 31: 5463-5468.
- Jeffreys, A. J., V. Wilson y S. L. Thein. 1985. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature* 314: 67-73.
- Jiménez González, F. G. 1999. Programa de manejo reserva de la biosfera la encrucijada, México. Instituto Nacional de Ecología, México, D.F.
- Johansson, A., P. Karlsson y U. Gyllensten. 2003. A novel method for automatic genotyping of microsatellite markers based on parametric pattern recognition. *Human Genetics* 113: 316-324.
- Jordan, T. G. 1993. *North American Cattle-Ranching Frontiers. Origins, diffusion and differentiation. (Histories of the American Frontier)*. University of New Mexico, Albuquerque (USA).
- Jordana, J., P. Alexandrino, A. Beja-Pereira, I. Bessa, J. Cañon, Y. Carretero, S. Dunner, D. Laloe, K. Moazami-Goudarzi, A. Sanchez y N. Ferrand. 2003. Genetic structure of eighteen local south European beef cattle breeds by comparative F-statistics analysis. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 120: 73-87.

- Kalinowski, S. T. 2002. How many alleles per locus should be used to estimate genetic distances? *Heredity* 88: 62-65.
- Kappes, S. M., J. W. Keele, R. T. Stone, R. A. McGraw, T. S. Sonstegard, T. P. Smith, N. L. Lopez-Corrales y C. W. Beattie. 1997. A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Research* 7: 235-249.
- Kaukinen, J. y S. L. Varvio. 1993. Eight polymorphic bovine microsatellites. *Animal Genetics* 24: 148.
- Kawasaki, E. 1990. Sample preparation from blood, cells and other fluids. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, New York.
- Kimura, M. y J. F. Crow. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49: 725-738.
- Kimura, M. y T. Ohta. 1978. Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 75: 2868-2872.
- Kimura, M. y T. Ota. 1971. On the rate of molecular evolution. *Journal of Molecular Evolution* 66: 367-386.
- Kruglyak, S., R. T. Durrett, M. D. Schug y C. F. Aquadro. 1998. Equilibrium distributions of microsatellite repeat length resulting from a balance between slippage events and point mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 10774-10778.
- Kuehn, R., W. Schroeder, F. Pirchner y O. Rottmann. 2003. Genetic diversity, gene flow and drift in Bavarian red deer populations (*Cervus elaphus*). *Conservation Genetics* 4: 157-166.
- Kumar, P., A. R. Freeman, R. T. Loftus, C. Gaillard, D. Q. Fuller y D. G. Bradley. 2003. Admixture analysis of South Asian cattle. *Heredity* 91: 43-50.
- Kumar, S., J. Gupta, S. Kumar, K. Dikshit, N. Navani, P. K. Jain y M. Nagarajan. 2006. Genetic variation and relationships among eight Indian riverine buffalo breeds. *Molecular Ecology* 15: 593-600.
- Lai, Y., D. Shinde, N. Arnheim y F. Sun. 2003. The mutation process of microsatellites during the polymerase chain reaction. *Journal of Computational Biology* 10: 143-155.
- Lai, Y. y F. Sun. 2003. The relationship between microsatellite slippage mutation rate and the number of repeat units. *Molecular Biology and Evolution* 20: 2123-2131.
- Latter, B. D. 1973. The estimation of genetic divergence between populations based on gene frequency data. *American Journal of Human Genetics* 25: 247-261.
- Lewandowski, J., R. F. Darwin, M. Tsigas y A. Ranases. 1999. Estimating costs of protecting global ecosystem diversity. *Ecological Economics* 29: 111-125.
- Li, M. H., K. Sternbauer, P. T. Haahr y J. Kantanen. 2005. Genetic components in contemporary Faroe Islands Cattle as revealed by microsatellite analysis. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 122: 309-317.
- Liron, J. P., C. M. Bravi, P. M. Mirol, P. Peral-Garcia y G. Giovambattista. 2006. African matrilineages in American Creole cattle: evidence of two independent continental sources. *Animal Genetics* 37: 379-382.
- Liron, J. P., M. V. Ripoli, J. C. De Luca, P. Peral-Garcia y G. Giovambattista. 2002. Analysis of genetic diversity and population structure in Argentine and Bolivian Creole cattle using five loci related to milk production. *Genetics and Molecular Biology* 25: 413-419.
- Loftus, R. T., E. David, D. E. MacHugh, D. G. Bradley, P. M. Sharp y P. Cunningham. 1994. Evidence for two independent domestications of cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 2757-2761.
- Loftus, R. T., O. Ertugrul, A. H. Harba, M. A. El-Barody, D. E. MacHugh, S. D. Park y D. G. Bradley. 1999. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Molecular Ecology* 8: 2015-2022.

- López Lomelí, C. 2002. La polémica de la justicia en la conquista de América, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- Lucero, R., Medina, J. y Y. Cervantes. 2004. Los usos del suelo. In: A. Toledo (ed.) Riqueza y Pobreza de la costa de Chiapas y Oaxaca. p 211-315. CECODES, México.
- Luikart, G., F. W. Allendorf, J. M. Cornuet y W. B. Sherwin. 1998. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *Journal of Heredity* 89: 238-247.
- Luikart, G. y J. M. Cornuet. 1998. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology* 12: 228-237.
- Luikart, G., L. Gielly, L. Excoffier, J. D. Vigne, J. M. Bouvet y P. Taberlet. 2001. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98: 5927-5932.
- Machugh, D. E., R. T. Loftus, D. G. Bradley, P. M. Sharp y P. Cunningham. 1994. Microsatellite DNA variation within and among European cattle breeds. *Proceedings. Biological sciences* 256: 25-31.
- MacHugh, D. E., R. T. Loftus, P. Cunningham y D. G. Bradley. 1998. Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers. *Animal Genetics* 29: 333-340.
- MacHugh, D. E., M. D. Shriver, R. T. Loftus, P. Cunningham y D. G. Bradley. 1997. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics* 146: 1071-1086.
- Magee, D. A., C. Meghen, S. Harrison, C. S. Troy, T. Cymbron, C. Gaillard, A. Morrow, J. C. Maillard y D. G. Bradley. 2002. A partial african ancestry for the creole cattle populations of the Caribbean. *J Hered* 93: 429-432.
- Manel, S., P. Berthier y G. Luikart. 2002. Detecting Wildlife Poaching: Identifying the Origin of Individuals with Bayesian Assignment Tests and Multilocus Genotypes. *Conservation Biology* 16: 650-659.
- Manel, S., M. K. Schwartz, G. Luikart y P. Taberlet. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 189-197.
- Maniatis, T., E. F. Fritsch y J. Sambrook. 1982. *Molecular cloning: a laboratory handbook*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, USA.
- Martínez, A. M., J. Calderón, E. Camacho, C. Rico, J. L. Vega-Pla y J. V. Delgado. 2005a. Caracterización genética de la raza bovina mostrenca con microsatélites. *Archivos de Zootecnia* 54: 357-361.
- Martínez, R. D., E. N. Fernández, A. M. Bróccoli, A. Martínez y J. V. Delgado. 2005b. Variabilidad genética en el ganado bovino criollo Argentino de origen Patagónico. *Archivos de Zootecnia* 54: 415-421.
- Martínez, R. D., E. N. Fernández, E. R. Género y F. J. L. Rumiano. 2000. El ganado bovino criollo en Argentina. *Archivos de Zootecnia* 49: 353-361.
- Martínez, R. D., G. Giovambattista, M. V. Ripoli, J. C. De Luca y F. N. Dulout. 2003. Patagonian Argentine Creole cattle polymorphism: comparison with North-West populations of this breed. *Research in Veterinary Science* 74: 287-290.
- Martínez Velázquez, G., J. d. J. Bustamante Guerrero, J. A. Palacios Fránquez y M. Montaña Bermúdez. 2006. Efectos raciales y heterosis materna Criollo-Guzerat para crecimiento posdestete y características de la canal. *Técnica Pecuaria en México* 44: 107-118.
- Mateus, J. C., M. C. Penedo, V. C. Alves, M. Ramos y T. Rangel-Figueiredo. 2004. Genetic diversity and differentiation in Portuguese cattle breeds using microsatellites. *Animal Genetics* 35: 106-113.

- Maudet, C., G. Luikart y P. Taberlet. 2002. Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. *Journal of Animal Science* 80: 942-950.
- Meirelles, F. V., A. J. M. Rosa, R. B. Lobo, J. M. Garcia, L. C. Smith y F. A. M. Duarte. 1999. Is the american zebu really *Bos indicus*? *Genetics and Molecular Biology* 22: 543-546.
- Méndez Mendoza, M., J. Serrano Palapa, R. Ávila Benítez, M. Rosas García y N. Méndez Palacios. 2002. Caracterización morfométrica del bovino criollo mixteco. *Archivos de Zootecnia* 51: 217-221.
- Metta, M., S. Kanginakudru, N. Gudiseva y J. Nagaraju. 2004. Genetic characterization of the Indian cattle breeds, Ongole and Deoni (*Bos indicus*), using microsatellite markers - a preliminary study. *BMC Genetics* 5: 16.
- Miretti, M. M., S. Dunner, M. Naves, E. P. Contel y J. A. Ferro. 2004. Predominant african-derived mtDNA in Caribbean and Brazilian Creole cattle is also found in Spanish cattle (*Bos taurus*). *The Journal of Heredity* 95: 450-453.
- Moazami-Goudarzi, K., D. Laloe, J. P. Furet y F. Grosclaude. 1997. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics* 28: 338-345.
- Moazami-Goudarzi, K., D. Vaiman, D. Mercier, C. Grohs, J. P. Furet, H. Leveziel y P. Martin. 1994. Analysis of genetic diversity in French cattle breeds by the use of microsatellites - preliminary-results. *Genetics Selection Evolution* 26: S155-S165.
- Mommens, G., W. Coppeters, A. Van de Weghe, A. Van Zeveren y Y. Bouquet. 1994. Dinucleotide repeat polymorphism at the bovine MM12E6 and MM8D3 loci. *Animal Genetics* 25: 368.
- Mommens, G., L. J. Peelman, A. Van Zeveren, G. D'leteren y N. Wissocq. 1999. Microsatellite variation between an African and five European taurine breeds results in a geographical phylogenetic tree with a bison outgroup. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 116: 325-330.
- Moore, S. S., K. Byrne, K. T. Berger, W. Barendse, F. McCarthy, J. E. Womack y D. J. S. Hetzel. 1994. Characterization of 65 bovine microsatellites. *Mammalian Genome* 5: 84-90.
- Morin, P. A., G. Luikart y R. K. Wayne. 2004. SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 19: 208-216.
- Morton, N. 1973. Genetic structure of populations. University Press of Hawaii, Honolulu.
- Mouse-Genoma-Secquencing-Consortium. 2002. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature* 420: 520-562.
- Mullis, K., F. Faloona, S. Scharf, R. Snikl, G. T. Horn y H. Erlich. 1986. Specific amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology* 51: 263-273.
- Mullis, K. B. 1987. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology* 155: 335-350.
- Nagylaki, T. 1998. Fixation indices in subdivided populations. *Genetics* 148: 1325-1332.
- Nakamura, Y., M. Leppert, P. O'Connell, R. Wolff, T. Holm, M. Culver, C. Martin, E. Fujimoto, M. Hoff, E. Kumlin y a. et. 1987. Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. *Science* 235: 1616-1622.
- Naves, M., D. Laloe, K. Goudarzi y A. Debus. 2005. Relaciones genéticas entre el bovino Criollo de Guadalupe y otras razas por marcadores bioquímicos. *Archivos de Zootecnia* 54: 385-394.
- Neff, B. D. y M. R. Gross. 2001. Microsatellite evolution in vertebrates: inference from AC dinucleotide repeats. *Evolution; International Journal of Organic Evolution* 55: 1717-1733.

- Negrini, R., E. Milanese, R. Bozzi, M. Pellecchia y P. Ajmone-Marsan. 2006. Tuscany autochthonous cattle breeds: an original genetic resource investigated by AFLP markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 123: 10-16.
- Nei, M. 1972. Genetic distances between populations. *American Naturalist* 106: 283-292.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*. p 3321-3323.
- Nei, M. 1975. *Molecular population genetics and evolution*, North-Holland, Amsterdam and New York.
- Nei, M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annales of Human Genetics* 41: 225-233.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Nei, M. y S. Kumar. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press, Inc., New York, U.S.A.
- Nei, M. y A. K. Roychoudhury. 1974. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics* 76: 379-390.
- Nei, M., F. Tajima y Y. Taten. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution* 19: 153-170.
- Nijman, I. J., D. G. Bradley, O. Hanotte, M. Otsen y J. A. Lenstra. 1999. Satellite DNA polymorphisms and AFLP correlate with *Bos indicus-taurus* hybridization. *Animal Genetics* 30: 265-273.
- Nijman, I. J., M. Otsen, E. L. Verkaar, C. de Ruijter, E. Hanekamp, J. W. Ochieng, S. Shamshad, J. E. Rege, O. Hanotte, M. W. Barwegen, T. Sulawati y J. A. Lenstra. 2003. Hybridization of banteng (*Bos javanicus*) and zebu (*Bos indicus*) revealed by mitochondrial DNA, satellite DNA, AFLP and microsatellites. *Heredity* 90: 10-16.
- Núñez González, F. A., J. A. García Macías, J. Hernández Bautista y J. A. Jiménez Castro. 2005. Caracterización de canales de ganado bovino en los valles centrales de Oaxaca. *Técnica Pecuaria en México* 43: 219-228.
- Nybom, H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology* 13: 1143-1155.
- Paetkau, D., W. Calvert, I. Stirling y C. Strobeck. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology* 4: 347-354.
- Paetkau, D., S. Slade, M. Burden y A. Estoup. 2004. Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Molecular Ecology* 13: 55-65.
- Page, R. D. M. 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12: 357-358.
- Pariset, L., M. C. Savarese, I. Capuccio y A. Valentini. 2003. Use of microsatellites for genetic variation and inbreeding analysis in Sarda sheep flocks of central Italy. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 120: 425-432.
- Park, S. D. E. 2001. Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection. Tesis doctoral, University of Dublin, Dublin.
- Pemberton, J. M., J. Slate, D. R. Bancroft y J. A. Barrett. 1995. Nonamplifying alleles at microsatellite loci: a caution for parentage and population studies. *Molecular Ecology* 4: 249-252.
- Pepin, L., Y. Amigues, A. Lepingle, J. L. Berthier, A. Bensaid y D. Vaiman. 1995. Sequence conservation of microsatellites between *Bos-taurus* (cattle), *Capra-hircus* (goat) and related species - examples of use in parentage testing and phylogeny analysis. *Heredity* 74: 53-61.
- Perkins, D. J. 1969. Fauna of Catal Huyuk evidence for early cattle domestication in Anatolia. *Science* 164: 177-178.
- Petit, R. J., E. M. Abdelhamid y O. Pons. 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* 12: 844-855.

- Piry, S., G. Luikart y J. M. Cornuet. 1999. Computer note. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data. *Journal of Heredity* 90: 502-503.
- Pompanon, F., A. Bonin, E. Bellemain y P. Taberlet. 2005. Genotyping errors: causes, consequences and solutions. *Nature Reviews Genetics* 6: 847-859.
- Postiglioni, A., G. Rincón, L. Kelly, M. D'Angelo, R. Gagliardi y D. De Andrés Cara. 1998. Caracterización genética de los bovinos Criollos del Uruguay. II. Estudio de su variabilidad genética. *Archivos de Zootecnia* 47: 225-231.
- Primo, A. T. 1992. El ganado bovino Ibérico en las Américas: 500 años después. *Archivos de Zootecnia* 41 (extra): 421-432.
- Pritchard, J. K., M. Stephens y P. Donnelly. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 155: 945-959.
- Radko, A., A. Zyga, E. Slota, M. Koscielny y W. Brejta. 2004. Evaluating the efficacy of blood groups and DNA microsatellite sequences in parentage control in cattle. *Medycyna Weterynaryjna* 60: 1212-1214.
- Radko, A., A. Zyga, T. Zabek y E. Slota. 2005. Genetic variability among Polish Red, Hereford and Holstein-Friesian cattle raised in Poland based on analysis of microsatellite DNA sequences. *Journal of Applied Genetics* 46: 89-91.
- Ramey, R. R., G. Luikart y F. J. Singer. 2000. Genetic Bottlenecks resulting from restoration efforts: the case of Bighorn Sheep in Badlands National Park. *Restoration Ecology* 8: 85-90.
- Ramírez N., R. y J. M. Berruecos V. 1995. La educación de la medicina veterinaria y zootecnia en México. *Panorama. Comites Interinstitucionales para la Evaluación de la Educación Superior, México, D.F.*
- Rannala, B. y J. L. Mountain. 1997. Detecting immigration by using multilocus genotypes. In: *Proceedings of National Academy of Sciences of USA, USA*. p 9197-9221.
- Raymond, M. y F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 1.2): A population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86: 248-249.
- Rege, J. E. O. y J. P. Gibson. 2003. Animal genetic resources and economic development: issues in relation to economic valuation. *Ecological Economics* 45: 319-330.
- Reist-Marti, S. B., A. Abdulai y H. Simianer. 2005. Conservation programmes for African cattle: design, cost and benefits. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 122: 95-109.
- Reist-Marti, S. B., H. Simianer, J. Gibson, O. Hanotte y J. E. O. Rege. 2003. Weitzman's approach and conservation of breed diversity: an application to African cattle breeds. *Conservation Biology* 17: 1299-1311.
- Rendo, F., M. Iriondo, B. M. Jugo, A. Aguirre, L. I. Mazon, A. Vicario y M. Gomez. 2004. Analysis of the genetic structure of endangered bovine breeds from the Western Pyrenees using DNA microsatellite markers. *Biochemical Genetics* 42: 99-108.
- Reyes Hernández, H., M. Aguilar Robledo, J. R. Aguirre Rivera y I. Trejo Vázquez. 2006. Cambios en la cubierta vegetal y uso del suelo en el área del proyecto Pujal-Coy, San Luis Potosí, México, 1973-2000, Instituto de Geografía. UNAM, México, D.F.
- Reynolds, J., B. S. Weir y C. Cockerham. 1983. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics Society of America* 105: 767-779.
- Richard, M. y R. S. Thorpe. 2001. Can microsatellites be used to infer phylogenies? evidence from population affinities of the Western Canary Island lizard (*Gallotia galloti*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 20: 351-360.
- Rincon, G., M. D'Angelo, R. Gagliardi, L. Kelly, S. Llambi y A. Postiglioni. 2000. Genomic polymorphism in Uruguayan Creole cattle using RAPD and microsatellite markers. *Research in Veterinary Science* 69: 171-174.

- Ripoli, M. V., G. Giovambattista, F. De Lúea y F. N. Dulout. 2000. Formación de un plantel base de ganado bovino Criollo Argentino para producción lechera. Efecto sobre las frecuencias génicas de seis loci. *Agro Sur* 28: 105-122.
- Ritz, L. R., M. L. Glowatzki-Mullis, D. E. MacHugh y C. Gaillard. 2000. Phylogenetic analysis of the tribe Bovini using microsatellites. *Animal Genetics* 31: 178-185.
- Rodero, A., J. V. Delgado y E. Rodero. 1992. Primitive andalusian livestock and their implications in the discovery of America. *Archivos de Zootecnia* 41 (extra): 383-400.
- Rogers, J. S. 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. *Studies in genetics VII*. University of Texas Publications.
- Rose, O. y D. Falush. 1998. A threshold for microsatellite expansion. *Molecular Biology and Evolution* 15: 613-615.
- Rousset, F. 1996. Equilibrium values of measures of population subdivision for stepwise mutation processes. *Genetics* 142: 1357-1362.
- Ruane, J. 1999. A critical review of the value of genetic distance studies in conservation of animal genetic resources. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 116: 317-323.
- Russell, N. D., J. Rios, G. Erosa, M. D. Remmenga y D. E. Hawkins. 2000. Genetic differentiation among geographically isolated populations of Criollo cattle and their divergence from other *Bos taurus* breeds. *Journal of Animal Science* 78: 2314-2322.
- Rzhetsky, A. y M. Nei. 1992. A simple method for estimating and testing minimum-evolution trees. *Molecular Biology and Evolution* 9: 945-967.
- Rzhetsky, A. y M. Nei. 1993. Theoretical foundation of the minimum-evolution method of phylogenetic inference. *Molecular Biology and Evolution* 10: 1073-1095.
- SAGARPA. 2002a. Informe sobre la situación de los recursos genéticos pecuarios (RGP) de México, Coordinación general de Ganadería., Mexico, D.F.
- SAGARPA. 2002b. Informe sobre la Situación de los Recursos Genéticos Pecuarios de México Claridades Agropecuarias No. 111. p 2-52.
- Saiki, R., S. Scharf, F. Faloona, K. B. Mullis, G. T. Horn, H. A. Erlich y N. Arnheim. 1985. Enzymatic amplification of b-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230: 1350-1354.
- Saiki, R. K., D. H. Gelfand, S. Stoffel, S. J. Scharf, R. Higuchi, G. T. Horn, K. B. Mullis y H. A. Erlich. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491.
- Sainudiin, R., R. T. Durrett, C. F. Aquadro y R. Nielsen. 2004. Microsatellite mutation models: Insights from a comparison of humans and chimpanzees. *Genetics* 168: 383-395.
- Saitou, N. y M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstruction phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- Sánchez Belda, A. 2002. Razas ganaderas españolas bovinas. 1 ed. Feagas; Mapa; A.Sanchez Belda, Madrid, España.
- Sancristobal-Gaudy, M., G. Renand, Y. Amigues, M. Y. Boscher, H. Leveziel y B. Bibe. 2000. Individual traceability of bovine meat using molecular markers. *Productions Animales* 13: 269-276.
- SanCristobal, M., C. Chevalet, C. S. Haley, R. Joosten, A. P. Rattink, B. Harlizius, M. A. M. Groenen, Y. Amigues, M. Y. Boscher, G. Russell, A. Law, R. Davoli, V. Russo, C. Desautels, L. Alderson, E. Fimland, M. Bagga, J. V. Delgado, J. L. Vega-Pla, A. M. Martinez, M. Ramos, P. Glodek, J. N. Meyer, G. C. Gandini, D. Matassino, G. S. Plastow, K. W. Siggins, G. Laval, A. L. Archibald, D. Milan, K. Hammond y R. Cardellino. 2006. Genetic diversity within and between European pig breeds using microsatellite markers. *Animal Genetics* 37: 189-198.
- SAS Institute. 2001. SAS/STAT User's guide Release 8.02. SAS Institute Inc., Cary, NC.

- Sastre, H. J., E. Rodero, A. Rodero, P. J. Azor, N. G. Sepulveda, M. Herrera y A. Molina. 2003. Caracterización genética de la raza bovina colombiana criolla Casanare mediante análisis de microsatélites. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 16 (supl.): 49.
- Schierup, M. H., D. Charlesworth y X. Vekemans. 2000. The effect of hitch-hiking on genes linked to balanced polymorphism in a subdivided population. *Genetics Research* 2000: 63-73.
- Schlotterer, C. y D. Tautz. 1992. Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acid Research* 20: 211-215.
- Schnabel, R. D., J. J. Kim, M. S. Ashwell, T. S. Sonstegard, C. P. Van Tassell, E. E. Connor y J. F. Taylor. 2005. Fine-mapping milk production quantitative trait loci on BTA6: analysis of the bovine osteopontin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102: 6896-6901.
- Segura-Correa, J. C. y R. C. Montes-Perez. 2001. Razones y estrategias para la conservación de los recursos genéticos animales. *Revista Biomédica* 12: 196-206.
- Selkoe, K. A. y R. J. Toonen. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9: 615-629.
- Serrano, J., R. Montes, B. Aguilar, N. Flores, F. Utrera y D. Cano. 2004. Valores hematológicos de bovinos criollos en la región Mixteca (México). *Veterinaria (Montevideo)* 39: 43-46.
- Serrera, R. M. 1977. Guadalajara ganadera. Estudio regional novohispano (1760-1805). Escuela de Estudios Hispano-Americanos de Sevilla, Sevilla, España.
- Shackell, G. H., H. C. Mathias, V. M. Cave y K. G. Dodds. 2005. Evaluation of microsatellites as a potential tool for product tracing of ground beef mixtures. *Meat Science* 70: 337-345.
- Shaw, P. 2003. *Multivariate Statistics for the Environmental Sciences*. Oxford University Press US.
- She, J. X., M. Autem, G. Kotoulas, N. Pasteur y F. Bonhomme. 1987. Multivariate analysis of genetic exchanges between *Solea aegyptiaca* and *Solea senegalensis* (Teleosts, Soleidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 32: 357-371.
- Shinde, D., Y. Lai, F. Sun y N. Arnheim. 2003. Taq DNA polymerase slippage mutation rates measured by PCR and quasi-likelihood analysis: (CA/GT)<sub>n</sub> and (A/T)<sub>n</sub> microsatellites. *Nucleic Acid Research* 31: 974-980.
- Shriver, M. D., L. Jin, R. Chakraborty y E. Boerwinkle. 1993. VNTR Allele Frequency Distributions Under the Stepwise Mutation Model: A Computer Simulation Approach. *Genetics* 134: 983-993.
- Sierra, I. 2001. El concepto de raza: evolución y realidad. *Archivos de Zootecnia* 50: 547-564.
- Signorello, G. y G. Pappalardo. 2003. Domestic animal biodiversity conservation: a case study of rural development plans in the European Union. *Ecological Economics* 45: 487-499.
- Simianer, H. 2005a. Decision making in livestock conservation. *Ecological Economics* 53: 559-572.
- Simianer, H. 2005b. Using expected allele number as objective function to design between and within breed conservation of farm animal biodiversity. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 122: 177-187.
- Simianer, H., S. B. Marti, J. Gibson, O. Hanotte y J. E. O. Rege. 2003. An approach to the optimal allocation of conservation funds to minimize loss of genetic diversity between livestock breeds. *Ecological Economics* 45: 377-392.
- Slatkin, M. 1991. Inbreeding coefficients and coalescence times. *Genetical Research* 58: 167-175.
- Slatkin, M. 1995. A Measure of Population Subdivision Based on Microsatellite Allele Frequencies. *Genetics* 139: 457-462.



- Slatkin, M. y L. Voelm. 1991. FST in a hierarchical island model. *Genetics* 127: 627-629.
- Snelling, W. M., E. Casas, R. T. Stone, J. W. Keele, G. P. Harhay, G. L. Bennett y T. P. L. Smith. 2005. Linkage mapping bovine EST-based SNP. *Bmc Genomics* 6: -.
- Sobel, E., J. C. Papp y K. Lange. 2002. Detection and integration of genotyping errors in statistical genetics. *American Journal of Human Genetics* 70: 496-508.
- Sodhi, M., M. Mukesh, B. P. Mishra, K. R. Mitkari, B. Prakash y S. P. Ahlawat. 2005. Evaluation of genetic differentiation in *Bos indicus* cattle breeds from Marathwada region of India using microsatellite polymorphism. *Animal Biotechnology* 16: 127-137.
- Solignac, M., D. Vautrin, E. Baudry, F. Mougél, A. Loiseau y J. M. Cornuet. 2004. A microsatellite-based linkage map of the honeybee, *Apis mellifera* L. *Genetics* 167: 253-262.
- Solinas Toldo, S., R. Fries, P. Steffen, H. L. Neibergs, W. Barendse, J. E. Womack, D. J. Hetzel y G. Stranzinger. 1993. Physically mapped, cosmid-derived microsatellite markers as anchor loci on bovine chromosomes. *Mammalian Genome* 4: 720-727.
- Southern, E. M. 1975. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *Journal of Molecular Biology* 98: 503-517.
- Spencer, C. C., J. E. Neigel y P. L. Leberg. 2000. Experimental evaluation of the usefulness of microsatellite DNA for detecting demographic bottlenecks. *Molecular Ecology* 9: 1517-1528.
- Steffen, P., A. Eggen, A. B. Dietz, J. E. Womack, G. Stranzinger y R. Fries. 1993. Isolation and mapping of polymorphic microsatellites in cattle. *Animal Genetics* 24: 121-124.
- Suárez-Domínguez, H. y Q. López-Tirado. 1996. The beef production system in Mexico: The current situation. In: NAFTA and agriculture: Is the experiment working? San Antonio, Texas USA
- Taberlet, P., L. P. Waits y G. Luikart. 1999. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends In Ecology And Evolution* 14: 323-327.
- Takahashi, K. y M. Nei. 2000. Efficiencies of fast algorithms of phylogenetic inference under the criteria of maximum parsimony, minimum evolution, and maximum likelihood when a large number of sequences are used. *Molecular Biology and Evolution* 17: 1251-1258.
- Takezaki, N. y M. Nei. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics* 144: 389-399.
- Talle, S. B., W. S. Chenyabuga, E. Fimland, O. Syrstad, T. Meuwissen y H. Klungland. 2005a. Use of DNA technologies for the conservation of animal genetic resources: A review. *Acta Agriculturae Scandinavica Section a-Animal Science* 55: 1-8.
- Talle, S. B., E. Fimland, O. Syrstad, T. Meuwissen y H. Klungland. 2005b. Comparison of individual assignment methods and factors affecting assignment success in cattle breeds using microsatellites. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science* 55: 74-79.
- Tateno, Y., N. Takezaki y M. Nei. 1994. Relative efficiencies of the maximum-likelihood, neighbor-joining, and maximum-parsimony methods when substitution rate varies with site. *Molecular Biology and Evolution* 11: 261-277.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acid Research* 17: 6463-6471.
- Tejera, G. A. y A. J. Capote. 2005. Colon y la Gomera. La colonización de la Isabela (República Dominicana) con animales y plantas canarias. Taller de Historia, Tenerife, España.
- Tewolde, A. 1997. Los Criollos bovinos y los sistemas de producción animal en los trópicos de América Latina. In: Simposium sobre Utilización de Razas y Tipos

- Bovinos Creados y Desarrollados en Latinoamérica y el Caribe, Maracaibo, Venezuela, 24-28 de noviembre
- Thieven, U., S. Solinas-Toldo, R. Friedl, J. Masabanda, R. Fries, W. Barendse, D. Simon y B. Harlizius. 1997. Polymorphic CA-microsatellites for the integration of the bovine genetic and physical map. *Mammalian Genome* 8: 52-55.
- Troy, C. S., D. E. MacHugh, J. F. Bailey, D. A. Magee, R. T. Loftus, P. Cunningham, A. T. Chamberlain, B. C. Sykes y D. G. Bradley. 2001. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* 410: 1088-1091.
- Tsuji, S., K. Itoh, S. Sasazaki, H. Mannen, K. Oyama, M. Shojo y F. Mukai. 2004. An association study using AFLP markers and application to a beef cattle breeding population. *Animal Genetics* 35: 40-43.
- Udina, I. G., S. O. Turkova, M. V. Kostyuchenko, L. A. Lebedeva y G. E. Sulimova. 2001. Polymorphism of bovine prolactin gene: Microsatellites, PCR-RFLP. *Russian Journal of Genetics* 37: 407-411.
- Ulloa Arvizu, R. 2001. Estimación de la heterogeneidad genética en poblaciones de bovinos criollos mexicanos utilizando marcadores moleculares. Tesis Doctoral, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico, D.F.
- Vaiman, D., D. Mercier, K. Moazamigoudarzi, A. Eggen, R. Ciampolini, A. Lepingue, R. Velmala, J. Kaukinen, S. L. Varvio, P. Martin, H. Leveziel y G. Guerin. 1994. A Set of 99 Cattle Microsatellites - Characterization, Synteny Mapping, and Polymorphism. *Mammalian Genome* 5: 288-297.
- Vaiman, D., E. Pailhoux, E. Payen, N. Saidi-Mehtar y C. Cotinot. 1995. Evolutionary conservation of a microsatellite in the Wilms tumour (WT) gene: mapping in sheep and cattle. *Cytogenetics and Cell Genetics* 70: 112-115.
- Vallejo, R. L., Y. L. Li, G. W. Rogers y M. S. Ashwell. 2003. Genetic diversity and background linkage disequilibrium in the North American Holstein cattle population. *Journal of Dairy Science* 86: 4137-4147.
- van Marle-Koster, E. y L. H. Nel. 2003. Genetic markers and their application in livestock breeding in South Africa: A review. *South African Journal of Animal Science* 33: 1-10.
- Vankan, D. M. y M. J. Faddy. 1999. Estimations of the efficacy and reliability of paternity assignments from DNA microsatellite analysis of multiple-sire matings. *Animal Genetics* 30: 355-361.
- Vazquez, J. F., T. Perez, F. Urena, E. Gudín, J. Albornoz y A. Dominguez. 2004. Practical application of DNA fingerprinting to trace beef. *Journal of Food Protection* 67: 972-979.
- Vignal, A., D. Milan, M. SanCristobal y A. Eggen. 2002. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution* 34: 275-305.
- Weir, B. S. 1996. *Genetic data analysis II*. Sinauer Ed. Sunderland.
- Weir, B. S. y C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Weitzman, M. L. 1992. On Diversity. *Quarterly Journal of Economics* 107: 363-405.
- Wellek, S. 2004. Tests for Establishing Compatibility of an Observed Genotype Distribution with Hardy-Weinberg Equilibrium in the Case of a Biallelic Locus. *Biometrics* 60: 694-703.
- Weller, J. I., E. Feldmesser, M. Golik, I. Tager-Cohen, R. Domochofsky, O. Alus, E. Ezra y M. Ron. 2004. Factors affecting incorrect paternity assignment in the Israeli Holstein population. *Journal of Dairy Science* 87: 2627-2640.
- Werner, F. A. O., G. Durstewitz, F. A. Habermann, G. Thaller, W. Kramer, S. Kollers, J. Buitkamp, M. Georges, G. Brem, J. Mosner y R. Fries. 2004. Detection and characterization of SNPs useful for identity control and parentage testing in major European dairy breeds. *Animal Genetics* 35: 44-49.

- Whittaker, J. C., R. M. Harbord, N. Boxall, I. Mackay, G. Dawson y R. M. Sibly. 2003. Likelihood-Based Estimation of Microsatellite Mutation Rates. *Genetics* 164: 781-787.
- Wickham, B. W. y G. Banos. 1998. Impact of international evaluations on dairy cattle breeding programmes. In: *Proceedings of Sixth World Congress on Genetics applied to Livestock Production*, Armidale, Australia. p 315-322.
- Wiener, P., D. Burton y J. L. Williams. 2004. Breed relationships and definition in British cattle: a genetic analysis. *Heredity* 93: 597-602.
- Wilkinson-Herbots, H. M. y R. Ettridge. 2004. The effect of unequal migration rates on FST. *Theoretical Population Biology* 66: 185-197.
- Wilson, G. A. y B. Rannala. 2003. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics* 163: 1177-1191.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- Wright, S. 1969. *Evolution and the Genetics of Populations The Theory of Gene Frequencies No. 2*. University of Chicago Press, Chicago.
- Xu, X., M. Peng, Z. Fang y X. Xu. 2000. The direction of microsatellite mutations is dependent upon allele length. *Nature Genetics* 24: 396-399.
- Yoon, D. H., H. S. Kong, J. D. Oh, J. H. Lee, B. W. Cho, J. D. Kim, K. J. Jeon, C. Y. Jo, G. J. Jeon y H. K. Lee. 2005. Establishment of an individual identification system based on microsatellite polymorphisms in Korean cattle (Hanwoo). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18: 762-766.
- Zaid, A., H. G. Hughes, E. Porceddu y F. W. Nicholas. 2004. *Glosario de biotecnología para la agricultura y la alimentación*. FAO, Roma, Italia.
- Zamora, M., R. Ginés, J. M. Afonso, M. Reig, L. García y M. J. Zamorano. 2004. Caracterización genética de la raza bovina Canaria utilizando microsatélites: estudio preliminar. *Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal* 12 (supl. 1): 12-15.
- Zamorano, M. J., J. Ruiter, A. Rodero y J. L. Vega-Pla. 1998. ANÁLISIS GENÉTICO DE MARCADORES MICROSATÉLITES EN DOS POBLACIONES DE LA RAZA BOVINA BERRENDA EN NEGRO. *Archivos de Zootecnia* 47: 195-200.
- Zane, L., L. Bargelloni y T. Patarnello. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology* 11: 1-6.
- Zhang, C., D. J. De Koning, J. Hernandez-Sanchez, C. S. Haley, J. L. Williams y P. Wiener. 2004. Mapping of multiple quantitative trait loci affecting bovine spongiform encephalopathy. *Genetics* 167: 1863-1872.
- Zharkikh, A. y W. H. Li. 1995. Estimation of confidence in phylogeny: the complete-and-partial bootstrap technique. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 4: 44-63.