

01660



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESTIMACION DE LA HETEROGENEIDAD GENETICA  
EN POBLACIONES DE BOVINOS CRIOLLOS  
MEXICANOS UTILIZANDO MARCADORES  
MOLECULARES

**T E S I S**  
PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**DOCTOR EN CIENCIAS  
VETERINARIAS (GENETICA)**  
PRESENTADA POR:  
**RAUL ULLOA ARVIZU**



ASESORES: DR. ROGELIO ALONSO MORALES

DR. MOISES MONTAÑO BERMUDEZ

MEXICO, D.F.

JULIO DEL 2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El autor da consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.



---

RAÚL ULLOA ARVIZU

### 3. DEDICATORIAS.

A mi esposa, **María Antonieta**, y a mis hijos, **Mánelik Adrián** y **Christian Aláin**,  
gracias por su sacrificio, comprensión y amor que me han brindado  
y por ser mi razón de ser.

A mi madre, **Gloria Arvizu Esquivel**, por haber contribuido con la mitad de lo que soy,  
gracias por su amor y apoyo que siempre me ha tenido.

Gracias madre.

A mi padre **Raúl Ulloa Martínez** (q.e.p.d.), por haber aportado la otra mitad para que yo  
pudiera existir, dondequiera que estés, siempre te recordaré.

Gracias padre.

A mis hermanos **Lucia** y **Gabriel Arturo**, por su cariño y apoyo,  
por lo que compartimos.

A mi abuelita **Lucía Martínez Rodríguez**, que aunque ya no estas conmigo físicamente,  
mas tu recuerdo si.

No hay que buscar cosas nuevas  
que sería imposible encontrar, porque no existen.  
Lo que hay que encontrar son nuevas relaciones  
entre las cosas que ya conocemos.

Luis Alberto Machado

En el lago del ombligo de la luna,  
casi siempre hay una respuesta  
Sólo hay que saber cuál es  
la pregunta correcta.

Jorge Reyes V.

#### 4. AGRADECIMENTOS.

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de Genética Molecular del Departamento de Genética y Bioestadística de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. y fue apoyado parcialmente por los proyectos de DGAPA-PAPIIT N° 2007976 y de CONACyT N° 0114PB.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haberme otorgado una beca para la realización de mis estudios.

A mis compañeros del Departamento de Genética y Bioestadística de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. de la U.N.A.M., en especial a la Dra. Graciela Tapia Pérez y al Dr. Pedro Ochoa Galván, por su apoyo para la realización de mis estudios de Doctorado.

A mi comité tutorial, M. en C. Adriana Ducoing Watty, Dr. Carlos Sosa Ferreira, Dr. Felipe J. Ruiz López, Dr. Alfredo Sahagún Ruiz, M. en C. Pedro Ochoa Galván, Dr. Moisés Montaña Bermúdez y Dr. Rogelio A. Alonso Morales por sus atinados comentarios que mejoraron este trabajo.

A los profesores de la U. Panamericana: el M. en C. Francisco Javier Estrada Mena y al Dr. Manuel Ramos Kuri por su ayuda con el secuenciador automático.

A la Biología Amanda Gayosso Vázquez, por su apoyo técnico que me brindo durante todo el trabajo de laboratorio.

Oscar Hernández Ponce de León, por su apoyo en la obtención, procesamiento y análisis de parte de las muestras.

Refugio Cortés, Amanda Gayosso, Oscar Hernández, Belem Huerta, Simón Martínez, Frida Salmerón y Linda Mejía por su ayuda, comprensión y tolerancia.

A Antonio Santibáñez M., Senovio Avellaneda, Arturo Estrada, Guillermo Martínez, Fernando de la Torre, Ángel Ríos, Jorge Quiroz y a Albino Mateos por su ayuda en la obtención de muestras.

A los propietarios de aquellos bovinos criollos que amable y desinteresadamente permitieron tomar las muestras necesarias para el estudio.

## Resumen

Existe poco conocimiento de la variabilidad genética de las poblaciones bovinas criollas mexicanas, las cuales son de gran valor por su adaptación a las difíciles condiciones ambientales. El objetivo de este estudio fue estimar la diversidad genética dentro y entre poblaciones bovinas utilizando marcadores moleculares (microsatélites, MS). Se estudiaron un total de 368 animales de bovinos criollos mexicanos (Guerrero, Nayarit, Durango y Chihuahua) y razas definidas; se emplearon el MS BoLa-DRBPI, el gen de la kappa caseína y 8 MS recomendados por FAO, para calcular las heterocigocidades e índices de fijación. Se obtuvieron la distancia genética estandarizada de Nei, la cuerda de Cavalli-Sforza y Edwards modificada, la desviación de Kullback y dos distancias geométricas bajo el modelo de mutación por pasos; con estas distancias se construyeron dendrogramas. Los bovinos criollos mexicanos tuvieron un mayor número de alelos específicos que las razas puras, esto se refleja con un valor de diversidad genética mayor (0.71-0.85), que lo reportado en otras poblaciones bovinas. Se observó la deficiencia de heterocigotos en el nivel de subpoblaciones y especies, con valores de 46.8% y 52.6%, respectivamente; y en la población total, el déficit fue de alrededor de 53%. Una probable explicación de este déficit, es el efecto de Wahlund junto con la presencia de consanguinidad. La diferenciación promedio entre las subpoblaciones ( $F_{st}$ ) fue de 0.079. Se encontró una relación positiva entre la distancia genética y la distancia geográfica de las poblaciones de criollos mexicanos que evidencia el origen peripátrico de estas poblaciones. En la topología del dendrograma obtenida con  $D_S$ , los grupos criollos de Nayarit, Durango y Chihuahua aparecen en una sola rama. En todos los dendrogramas obtenidos, el criollo de Guerrero aparece cercano a la rama formada por Guzerat y Brahman. Es necesario estudiar más poblaciones y usar más marcadores genéticos.

Palabras Clave: Bovinos Criollos, Diversidad Genética, Distancias Genéticas, Microsatélites, Marcadores Genéticos, Índices De Fijación.

## Summary

There are poor knowledge about genetic variability of Mexican criollo cattle, which have a great value for their adaptability to hard environments. The objective of this study was estimate the genetic diversity within and between cattle populations using molecular markers (microsatellites, MS). It was studied 368 unrelated animals of Mexican criollos cattle (Guerrero, Nayarit; Durango and Chihuahua) and pure breeds using BoLa-DRBP1 MS, kappa casein gene and 8 MS recommended by FAO, in order to calculate heterozygocities and fixation indices. Nei's standard genetic distances ( $D_S$ ), modified Cavalli-Sforza and Edwards' chord ( $D_A$ ), Kullback deviation ( $D_K$ ) and two geometric distance based on stepwise mutation model were used to construct dendrograms Mexican criollo cattle had more number of specific alleles than pure breed cattle; this have repercussions on a larger genetic diversity value (0.71-0.85), than other reported cattle studies. The deficit of heterozygotes was noted at subpopulation and species level with values of 46.8% and 52.6%, respectively; and in whole population the deficit was about 53%. The likely explanation of the deficit is the Wahlund effect joining with inbreeding. The average of genetic differentiation among subpopulations ( $F_{st}$ ) was equals 0.079. A positive relation was found between genetic and geographical distance of Mexican criollo populations that demonstrate peripatric origin of these cattle populations. Topology of the dendrogram obtained using  $D_S$ , criollos of Nayarit, Durango and Chihuahua appear in only one branch; but in all dendrograms, the criollo of Guerrero appear close the Guzerat and Brahman branch. It is necessary to include other Mexican criollo cattle and use more genetic markers.

Key Words: Criollo Cattle, Genetic Diversity, Genetic Distance, Microsatellites, Genetic Marker, Fixation Indexes.

## INDICE

	<b>Contenido</b>	<b>Pag</b>
1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Ganado bovino Criollo en México	2
1.1.1	Características.	3
1.1.2	Origen	3
1.1.3	Desarrollo del ganado criollo en la Nueva España	4
1.1.4	México Independiente	5
1.1.5	Situación actual del ganado criollo	7
1.1.6	Bovinos de raza pura.	7
1.1.6.1	Razas cebuinas	7
1.1.6.1.1	Guzerat	8
1.1.6.1.2	Brahman.	8
1.1.6.2	Razas de origen europeo	9
1.1.6.2.1	Hereford	9
1.1.6.2.2	Suizo Pardo	10
1.1.6.2.3	Holstein	10
1.1.6.3	Otros grupos genéticos de origen español.	10
1.1.6.3.1	Ganado de Lidia	10
1.1.6.3.2	Criollo Lechero Centroamericano	11
1.2	Polimorfismo Genético a nivel de ADN	12
1.2.1	Estructura genómica del bovino	12
1.2.1.1	Repetidos en Tandem de Número Variable	12
1.2.1.2	Repetidos en Tandem Cortos	13
1.2.2	Mutación	15
1.2.2.1	Modelo de Mutación Infinito.	16
1.2.2.2	Modelo de Mutación por pasos o Stepwise	16
1.3	DIVERSIDAD GENETICA	16
1.3.1	Diversidad Genetica intrapoblacional	16



1 3 2	Diversidad Genética entre poblaciones	18
1.3 2.1.	Diferenciación de poblaciones.	18
1 4	Distancia Genética	21
1 4.1.	Distancias Geométricas	22
1 4.2.	Medidas de Distancia para estudios de evolución	25
1.4.3.	Medidas con significado biológico.	26
1.4.4.	Medidas basadas en la Teoría Informacional	29
1.4 5.	Distancias basadas en el Modelo de Mutación por Pasos (Stepwise Mutation Model)	30
1.5.	Estudios filogenéticos en bovinos	31
1.6	Hipótesis	34
1.7	Objetivo	34
2	MATERIAL Y MÉTODOS	35
2.1.	Muestreo de animales	35
2.1.1.	Poblaciones estudiadas	35
2.2.	Genotipificación de microsatélites.	36
2.2.1.	Purificación de ADN	36
2.2 2.	Utilización de microsatélites locus específico.	36
2.2.3.	Marcaje de iniciadores.	38
2 2.4.	Reacción en Cadena de la Polimerasa	38
2.2.5.	Preparación de los amplificadores.	38
2 2 6.	Condiciones de trabajo de la aplicación GeneScan	39
2 2.7	Asignación de los tamaños de los fragmentos	39
2.2.8.	Asignación de alelos	39
2 3.	Genotipificación de la Kappa Caseína.	40
2.4.	Estimación de la diversidad Genética.	42
2.4.1.	Estimadores de diversidad genética intrapoblacional	42
2.4 2.	Estructura Jerárquica	44
2.5	Distancias genéticas.	45
2 5 1	Distancia Estandarizada de Nei ( $D_S$ ).	45

2.5.2. Distancia geométrica $D_A$	45
2.5.3. Desviación de Kullback ( $D_K$ )	46
2.5.4. Distancias basadas en el modelo de mutación por pasos	46
2.6. Construcción de Dendogramas	47
2.6.1. Confiabilidad de la topología.	47
3 RESULTADOS	49
3.1. Diversidad Genética.	49
3.1.1. Número de alelos presentes	49
3.1.2. Loci polimórficos.	49
3.1.3. Alelos específicos.	50
3.1.4. Heterocigocidad	52
3.2. Índices de Fijación.	52
3.2.1. Análisis por loci y subgrupo	52
3.2.2. Estructura jerárquica	57
3.3. Distancias Genéticas	58
3.3.1. Distancia Genética Estandarizada de Nei	58
3.3.2. Distancia Geométrica $D_A$	60
3.3.3. Distancias basadas en la Teoría Informacional	60
3.3.4. Distancias basadas en el modelo de mutación por pasos	60
3.4. Análisis Filogenético.	64
3.4.1. Comparación de dendrogramas obtenidos con distintas distancias	64
4. DISCUSIÓN	73
4.1. Diversidad genética	73
4.2. Estructura Jerárquica.	74
4.3. Distancias Genéticas.	76
4.4. Comparación de Distancias y Análisis Filogenético	79
4.5. Conclusiones	81
5 REFERENCIAS	83

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Pag.</b>
Cuadro 2.1. Nombre, localización, secuencia y colorante de los iniciadores utilizados, así como el tamaño esperado del microsatélite amplificado	37
Cuadro 3.1. Número de alelos por grupo genético en cada uno de los microsatélites.	49
Cuadro 3.2. Número de alelos específicos para cada grupo genético en cada uno de los microsatélites.	50
Cuadro 3.3. Alelos poco frecuentes que tienen cierta especificidad.	51
Cuadro 3.4. Heterocigocidad observada ( $H_O$ ), esperada ( $H_S$ ) y total ( $H_T$ ) e Índices de fijación subpoblacional ( $F_{IS}$ ), total ( $F_{IT}$ ), grado de diferenciación genética ( $F_{ST}$ ) y magnitud relativa de diferenciación génica entre subpoblaciones ( $G_{ST}$ ) por los 9 microsatélites y el gen de la Kappa Caseína.	53
Cuadro 3.5. Diversidad Genética y error estándar en los 11 grupos.	54
Cuadro 3.6. Heterocigocidad observada ( $H_o$ ), esperada ( $H_s$ ) y estadístico $F_{is}$ para cada loci por grupo genético	55
Cuadro 3.7. Índices de fijación calculados en diferentes niveles de aglomeración de demes.	58
Cuadro 3.8. Distancia estandarizada de Nei ( $D_s$ ) y su error estándar utilizando 9 microsatélites y el gen de la Kappa Caseína en grupos criollos y razas puras.	59
Cuadro 3.9. Distancia $D_A$ utilizando 9 microsatélites y el gen de la Kappa Caseína en grupos criollos y razas puras.	61
Cuadro 3.10. Desviación de Kullback calculada a partir de frecuencias alélicas de 9 microsatélites.	62
Cuadro 3.11. Distancia de Golstein y Distancia Taxonómica utilizando 9 microsatélites.	63
Cuadro A1. Frecuencias alélicas del microsatélite D01S8 por grupo genético.	88
Cuadro A2. Frecuencias alélicas del microsatélite D09S1 por grupo genético.	89
Cuadro A3. Frecuencias alélicas del microsatélite D18S5 por grupo genético.	90
Cuadro A4. Frecuencias alélicas del microsatélite D12S4 por grupo genético.	91
Cuadro A5. Frecuencias alélicas del microsatélite BoLA-DRBP1 por grupo genético.	92

Cuadro A6. Frecuencias alélicas del microsatélite D16S3 por grupo genético.	93
Cuadro A7. Frecuencias alélicas del microsatélite D18S1 por grupo genético.	95
Cuadro A8. Frecuencias alélicas del microsatélite D21S6 por grupo genético.	96
Cuadro A9. Frecuencias alélicas del microsatélite D05S1 por grupo genético.	97
Cuadro A10. Frecuencias alélicas del gen de la kappa caseína por grupo genético.	98
Cuadro A11. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D01S8.	99
Cuadro A12. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D09S1.	99
Cuadro A13. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D18S5.	100
Cuadro A14. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D12S4.	100
Cuadro A15. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite BoLA-DRBP1.	101
Cuadro A16. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D16S3.	101
Cuadro A17. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D18S1.	102
Cuadro A18. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D21S6.	102
Cuadro A19. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D05S1.	103

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Pag.</b>
Figura 1.1. Expansión de la ganadería bovina en México durante la época colonial (modificado de Rouse, 1977)	5
Figura 1.2. Localización actual del ganado bovino criollo en México.	8
Figura 2.1. Zonas de muestreo de bovinos criollos en los estados de 1, Chihuahua; 2, Durango; 3, Nayarit; y 4, Guerrero.	35
Figura. 2.2. Electroferograma producido por el programa GeneScan 3.0 de ABI PRISM®.	40
Figura 2.3. Análisis del polimorfismo de Fragmentos de Restricción del gen de la kappa caseína	41
Figura 2.4. Filograma de los 11 grupos genéticos agrupados en forma hipotética.	44
Figura 3.1. Dendrograma que resume las distancias $D_A$ calculadas con 9 microsatélites y el gen de la kappa caseína en 11 grupos genéticos.	66
Figura 3.2. Dendrograma que resume las distancias $D_S$ calculadas con 9 microsatélites y el gen de la kappa caseína en 11 grupos genéticos.	67
Figura 3.3. Dendrograma que resume las distancias $D_A$ calculadas con 9 microsatélites en 11 grupos genéticos.	68
Figura 3.4. Dendrograma que resume las distancias $D_S$ calculadas con 9 microsatélites en 11 grupos genéticos.	69
Figura 3.5. Dendrograma que resume las distancias $D_K$ calculadas con 9 microsatélites en 11 grupos genéticos.	70
Figura 3.6. Dendrograma que resume las distancias $D_G$ calculadas con 9 microsatélites en 11 grupos genéticos.	71
Figura 3.7. Dendrograma que resume las distancias $D_T$ calculadas con 9 microsatélites en 11 grupos genéticos.	72

## ABREVIATURAS Y SIGLAS USADAS

ADN	Acido Desoxirribónucleico.
BRA	Bovinos de la raza Brahman
CHIH	Grupo de bovinos criollos provenientes de la Sierra Tarahumara en el estado de Chihuahua
CLC	Bovinos de la raza Criollo Lechero Centroamericano.
D <sub>A</sub>	Distancia modificada de Cavalli-Sforza y Edwards (Largo de la cuerda entre los puntos X y Y sobre la hiperesfera multidimensional)
DaDiS	Sistema del Estudio de la Diversidad Genética en los animales Domésticos.
D <sub>E</sub>	Distancia Euclideana
D <sub>G</sub>	Distancia de Heinke (1895) o Golstein et al. (1995) para microsatélites
DGO	Grupo de bovinos criollos provenientes de la Sierra de Durango
D <sub>K</sub>	Distancia de entropía o Desviación de Kullback
D <sub>S</sub>	Distancia Estandarizada de Nei
D <sub>ST</sub>	Diversidad genética promedio entre subpoblaciones
D <sub>T</sub>	Distancia Taxonómica
F	Coefficiente de endogamia
FAO	Organización de las Naciones Unidas para los Animales y Alimentación.
F <sub>IS</sub>	Consanguinidad difusa o relativa a la subpoblación
F <sub>IT</sub>	Consanguinidad total de la población
F <sub>ST</sub>	Grado de diferenciación genética de las subpoblaciones
GRO	Grupo de bovinos criollos provenientes de “Tierra Caliente” en el estado de Guerrero.
G <sub>ST</sub>	Magnitud relativa de diferenciación genética entre poblaciones
GUZ	Bovinos de la raza Guzerat.
HERE	Bovinos de la raza Hereford
H <sub>O</sub>	Heterocigocidad observada
HOLS	Bovinos de la raza Holstein.

H <sub>S</sub>	Heterocigocidad esperada
H <sub>T</sub>	Heterocigocidad total
Kb	Kilobases nitrogenadas o nucleotidos.
MMI	Modelo de mutación infinito.
MMP	Modelo de mutación por pasos (Stepwise Mutation Model)
MS	Microsatélite .Sequencia corta de ADN que se repite en tandem
NAY	Grupo de bovinos criollos provenientes de la Sierra del Estado de Nayarit
NJ	Metodología Neighbour-Joining para la construcción de dendrogramas
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa.
PIC	Contenido de Información Polimórfica.
STR	Repetido Corto en Tandem.
SUIZ	Bovinos de la raza Suizo Pardo.
UTO	Unidades Taxonómicas Operativas
VNTR	Repetido en Tandem de Número Variable.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las razas modernas de bovinos están bien caracterizadas y se han estudiado sus relaciones filogenéticas. Pero existen muchas razas y variedades autóctonas en casi todos los países del mundo. Estas poblaciones son de uso local y su número generalmente va disminuyendo. Ante la incertidumbre de las necesidades futuras de genes y germoplasma, se ha fomentado la preservación de recursos genéticos animales en el ámbito mundial (Hudges, 1990), con el propósito de mantener la diversidad genética con fines científicos, culturales y económicos (Fitzhugh, 1990). Aunque en teoría todas las razas y líneas deben ser preservadas, el costo de manutención obliga a seleccionar aquellas que están en peligro de extinción o que por su valor genético de adaptabilidad a los ambientes locales, resistencia a algunos agentes patológicos, complementariedad, pureza o que por el proceso evolutivo sean genéticamente distantes a otras poblaciones (Bodó, 1990).

En México, las poblaciones de bovinos locales, llamadas también "criollos", han estado evolucionando desde hace 450 años en las diferentes zonas ecológicas del país. Estos animales han sido explotados en un proceso productivo tradicional; y están siendo paulatinamente sustituidos al ser considerados animales poco productivos en los sistemas de explotación modernos. El gran valor de las poblaciones bovinas locales radica en su sobrevivencia bajo condiciones limitadas de alimentación y sanitarias, así como, condiciones climáticas difíciles. Es urgente conocer en estas poblaciones su diversidad genética y potencial productivo, de tal forma que se orienten las estrategias de preservación ya sean *ex situ* o *in situ*.

Antiguamente, la diferenciación entre razas se basaba en características visuales como los patrones del color de la capa y la morfología, especialmente las craneales, de los animales. Con el desarrollo de la electroforesis y la inmunología se han utilizado los polimorfismos de las proteínas de los eritrocitos, leucocitos, plasma sanguíneo, leche y enzimas (Pirchner, 1981). Últimamente se ha demostrado que el ADN genómico tiene secuencias de baja complejidad que se encuentran altamente repetidas, organizadas en tandem y dispersas por todo el genoma. Estas secuencias son conocidas como minisatélites (unidades de repetición de 9 a 64 pares de bases) y microsatélites (unidades de repetición de 1 a 5 pares de bases); se caracterizan por presentar un gran polimorfismo genético, de



ahí que se les denomine Variantes en el Número de Repetidos en Tandem (VNTR's) a los primeros y Repetidos en Tandem Cortos (Short Tandem Repeats, STR) a los últimos (Queller et al., 1993). Los STR o microsátélites (MS) tienen las características del marcador genético ideal debido a que son locus específico y los alelos son codominantes, pueden ser medidos con gran exactitud y presentan una gran variación en las poblaciones. (Queller et al., 1993). Claramente se ha demostrado la superioridad de los MS como marcadores sobre los polimorfismos de proteína, debido al mayor número de alelos y heterocigocidades.. Aproximadamente se requieren 10 MS para alcanzar una tasa de error medio del 5% comparado con cerca de 65 marcadores con dos alelos. Así los MS permiten una diferenciación más clara entre razas relacionadas y un incremento de la exactitud en la medición de las divergencias (Paszek et al., 1998; Blott et al., 1999).

Con la utilización de microsátélites se podrá establecer, en principio, el grado de diferenciación de la poblaciones bovinas locales. Este enfoque será más sencillo que el utilizar polimorfismos bioquímicos y la medición tendrá mayor precisión.

### **1.1. Ganado bovino Criollo en México.**

El ganado bovino criollo en México se ha explotado en una gran variedad de sistemas de producción tradicionales. A estos animales se les ha exigido, en forma consciente o inconsciente, ciertas cualidades fenotípicas tales como: tolerancia al calor, resistencia al estiaje o "altas" producciones de leche. Según Saucedo (1984), el ganado bovino criollo en México degeneró por efecto de la consanguinidad, grandes sequías, así como, de enfermedades y plagas no controladas. Y que "las únicas cualidades que hacen valioso este ganado son su rusticidad, sobriedad, aclimatación al medio y adaptación a todas las épocas del año", así como su utilidad como raza materna en los programas de absorción. El ganado criollo es una "población adaptada" a un ambiente dado (Joandet, 1990).

La palabra criollo se utiliza, al menos en México, como sinónimo de animal de baja calidad, corriente o no mejorado. El significado de un animal criollo para los productores no es el de un animal "hijo de bovinos españoles", mas bien, como un animal que nació en su explotación aunque sea de alguna raza reconocida (Ulloa, 1983). Para efectos de este estudio se considerará como "criollo" a los animales *Bos taurus* que son descendientes del

ganado que trajeron los españoles durante la colonia y que en su conformación no manifiestan influencia de *Bos indicus* y de ninguna de las razas *Bos taurus* reconocidas en la actualidad.

**1.1.1. Características.** En la Península de Baja California, se les denomina Chinampo (Rouse, 1977) y en Sonora, se conoce como "frijolillo" por las manchas que presentan que son similares a cierta variedad de frijol de la región (De Alba, 1987); en el estado de Nayarit se le conoce como "coreño" porque este tipo de ganado tienen los miembros de la etnia Cora (Montaño, 1998). En general, los animales criollos tienen un mejor comportamiento reproductivo y un comportamiento productivo similar o ligeramente inferior comparado con los animales de las razas "exóticas" (Joandet, 1990). Estas comparaciones se han hecho en condiciones extensivas principalmente en Colombia y Venezuela. Desafortunadamente, en México, los estudios han sido muy limitados; en 1982, en el Campo Experimental "El Verdineño" del INIFAP, se conformó un hato de 50 vacas y 10 sementales provenientes de las comunidades localizadas en la Sierra de Nayarit; se inició un estudio de cruzamiento dialélico entre un grupo criollo y Guzerat en condiciones de trópico seco (Martínez y Montaño, 1992; Montaño, 1998).y últimamente se han iniciado estudios en diferentes grupos de criollos (Rodríguez *et al.* 1998, Hernández, 1998) Ahora bien, se presume que los dueños de los animales criollos han ejercido cierta selección de animales por características de tipo y conformación, y han procurado evitar los apareamientos endogámicos estrechos entre sus animales.

El patrón de color del ganado criollo es un color completo con tonos que van desde el amarillo hasta el café oscuro e incluso negro, y también los hay blancos con manchas negras o rojas (berrendos); el cual es el más frecuente en los estados del Norte del País (Espinoza, 1998, Fierro y Pámares, 1998; Rodríguez *et al.*, 1998). Estos animales son "parecidos" al Retinto, Negro Andaluz y Berrenda (Rouse, 1977).

De Alba (1987) distingue dos tipos de criollos en México los de clima subtropical y los de la montaña. Los animales de la montaña poseen un pelo más largo que los de las partes bajas subtropicales.

**1.1.2. Origen.** Cristóbal Colón trajo los primeros bovinos a la Hispanola (actualmente Haití-Rep. Dominicana) en 1493, en su segundo viaje los cuales provenían de Andalucía y

de las Islas Canarias. En sólo 4 generaciones (1510) se observó un gran crecimiento. Conforme se iban conquistando nuevos territorios, los colonizadores se asentaban llevando ganado. Primero fueron las islas de Jamaica y Cuba y luego los continentes (De Alba, 1987).

El pie de cría que arribó a las islas caribeñas tuvo una variada constitución genética. En la época de la colonia no había razas reconocidas en España (De Alba, 1987); pero las reses fueron embarcadas de las provincias de Andalucía y Extremadura (Rouse, 1977), aunque hay quienes sostienen que hubo importaciones de las costas de Africa, Norte de España y de los Pirineos (Azuara, 1982, Saucedo, 1984); por otro lado, en las Islas Canarias, además del ganado español, hubo mezclas con bovinos de Portugal y de Africa (De Alba, 1987).

**1.1.3. Desarrollo del ganado criollo en la Nueva España.** Desde hace casi 500 años (1521) se inicio la explotación del ganado bovino en México a raíz de la conquista española. Posteriormente, en varios puntos de la costa del Golfo y el Caribe hubo desembarcos provenientes principalmente de la Hispanola y Cuba, pero algunos venían de Jamaica y de las Islas Canarias (De Alba, 1987). A partir del año de 1540 se empezaron a desarrollar zonas ganaderas en los estados de Zacatecas, Aguascalientes, Guanajuato, Querétaro, Veracruz y Tabasco. Para 1565 la frontera del ganado era, por la costa del Pacífico, hasta el norte de Nayarit y, por el Golfo de México, la Huasteca Tamaulipeca; las Sierra Madre Occidental y Oriental estaban deshabitadas por bovinos, pero por el centro del país se extendían por el altiplano (Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas) hasta llegar casi a los límites con el estado de Coahuila. El ganado fue introducido a la Península de Baja California por Loreto en 1697; para 1800 el ganado bovino se encontraba en todo lo que es el actual territorio Nacional (figura 1.1.) (Rouse, 1977).

No se cuenta con registros del número de animales que fueron importados, había una disposición de que por cada mil toneladas de carga, las embarcaciones podrían llevar 20 vacas y terneras, entre otros animales (Saucedo, 1984). Por la abundancia de pastos, el crecimiento de la población bovina fue extraordinario y se reporta que, en sólo 79 años después de la primera introducción, en una sola hacienda se herraron 30.000 becerros (De Alba, 1987).

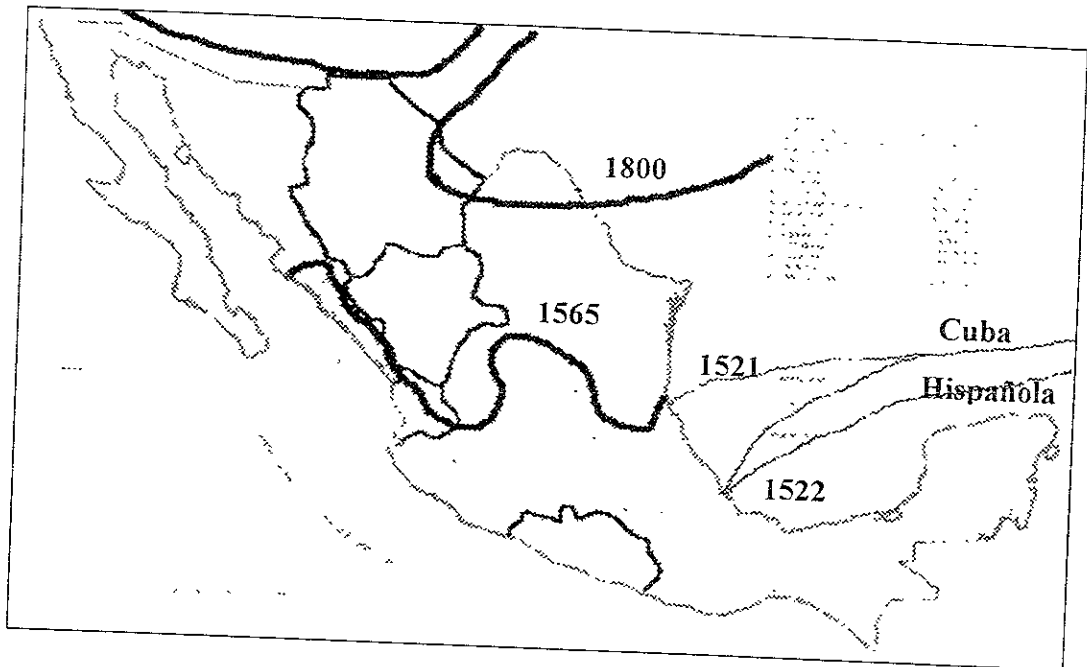


Figura 1.1. Expansión de la ganadería bovina en México durante la época colonial (modificado de Rouse, 1977)

En la Colonia, la ganadería bovina estaba fuertemente relacionada con la minería, ya que se demandaba cueros y cebo (Espin y de Leonardo, 1978, Garcia, 1999). En el siglo XVI hubo un gran auge de esta actividad, pero con la decadencia ya en el siglo XVII, hubo en algunas provincias grandes matanzas indiscriminadas de animales por la baja demanda de carne (Espin y de Leonardo, 1978)

**1.1.4. México Independiente.** Una vez consumada la Independencia, la inestabilidad política existente en el país, guerras internas y contra extranjeros, propiciaron el estancamiento de la actividad ganadera y en general la de toda la nación (de la Mora, 1989). En el norte del territorio mexicano, la actividad estaba en decremento tanto por la falta de atención por parte del gobierno central como por los constantes abigeatos cometidos por los apaches. La actividad ganadera se incrementó por la década de los 70 del siglo XIX debido a que los robos de ganado disminuyeron debido a la casi exterminación de los apaches por parte del gobierno estadounidense, además, por los cambios hechos por el presidente Porfirio Díaz, la frontera americana se abrió al comercio del ganado. En 1884, se

importaron cebús y al cruzarse con el ganado criollo dio origen a los animales denominados "Braminos" en el norte y centro de la república (Vizcarra, 1963); por esos años se importaron los primeros animales Holstein y Hereford. De las estadísticas disponibles se menciona que en el año de 1878 el inventario nacional era de un millón de cabezas y para 1907 el conteo fue de aproximadamente 12 millones de animales.

La Revolución Mexicana (1910) tuvo un gran impacto negativo en la actividad ganadera, porque las reses eran utilizadas para alimentar a los grupos armados y para cambiarlos por armas. El primer recuento hecho después de la revolución mexicana (1925), fue de alrededor de 3 millones de bovinos (UNAM, 1990); y de acuerdo al Primer Censo Agropecuario, en 1930, existían un poco más de 10 millones de cabezas (Vizcarra, 1963; Saucedo, 1984), de las cuales el 31.8% eran vacas "corrientes" y el 3.8% de vacas "finas" (Saucedo, 1984). Fue sólo hasta hace 126 años cuando se inició la introducción de ganado de razas definidas, pero, fue a partir de 1930 cuando se realizaron grandes importaciones de cebús, Holstein y demás razas bovinas (Vizcarra, 1963; Mondragon y Ulloa, 1990). A partir de esa década el número de bovinos nativos ha estado descendiendo.

Otro de los cuellos de botella de la población ganadera criolla fue la campaña sanitaria de la Fiebre Aftosa, en la cual fueron sacrificados un gran número de animales (millon de cabezas). En la década de los ochentas del siglo XX, el gobierno mexicano implementó un programa de rescate genético del ganado criollo, en el cual se conformaron varios hatos (Azua, 1982); pero, desafortunadamente se utilizaron sementales de la razas Aubrach y Salers, por el color de la capa que es parecido al criollo. Pero las autoridades de ese entonces perdieron interes por la conservación del recurso genético y el programa desapareció; en su lugar fueron implementados programas de canje de toros criollos por sementales de raza pura.

El ganado criollo que actualmente existe en México, no ha recibido nuevas importaciones de ganado español por prácticamente 200 años; esto fue debido a las políticas que debieron de suceder tanto en España como en México durante el periodo posterior a la independencia. Este aislamiento genético del ganado nativo mexicano, se traduce en 30 a 40 generaciones. Aunque existe la posibilidad de que en las regiones más

inaccesibles del territorio nacional el aislamiento puede ser aun mayor. Estas barreras topográficas han permitido la conservación del ganado criollo.

**1.1.5. Situación actual del ganado criollo.** El hato bovino nacional se compone de aproximadamente 31 millones de cabezas (SAGAR, 1997). No se cuenta con datos confiables en cuanto al número de animales por grupo genético. Hay relativamente un pequeño porcentaje de ellos que son considerados de raza pura, y el resto se le ha denominado corriente.

Muchos de estos animales son denominados "corrientes" o "criollos", sin embargo, la gran mayoría de estos animales tienen encaste de Holstein, Pardo Suizo o están "acebuzados". Y realmente, son pocos los animales que se parecen a los grupos de animales que originalmente trajeron los españoles a México.

El ganado criollo existe en las regiones más inaccesibles del país (figura 1.2.), las cuales se limita, principalmente, a la Sierra Madre Occidental, los estados de la república donde se puede localizar ganado criollo son Sonora, Chihuahua, Sinaloa, Durango, Nayarit, Jalisco, Zacatecas, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Puebla, Veracruz, Tabasco, Chiapas y Baja California Sur (Rouse, 1977; De Alba, 1987; Murphey *et al.*, 1981; Rios y Rodriguez, 1998). Estos animales generalmente pertenecen a campesinos de muy bajos recursos económicos. sin embargo, existen ganaderos en el estado de Chihuahua y Tamaulipas que explotan al ganado criollo con el objeto de producir animales de diversión para su exportación a los Estados Unidos de América.

El gobierno mexicano a través del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), tiene un pequeño núcleo de vacas criollas provenientes de las zonas montañosas del estado de Nayarit, el cual fue formado hace aproximadamente 20 años.

#### **1.1.6. Bovinos de raza pura.**

Actualmente hay un poco más de 30 razas de origen europeo y asiático. A continuación se describen aquellas razas que fueron incluidas en este estudio.

**1.1.6.1. Razas cebuinas.** Existen 7 razas que se explotan principalmente en las zonas tropicales de México: Indubrasil, Brahman, Gir, Nellore y Guzerat; y en las últimas dos décadas se ha importado animales Red Sindhi y Sahiwal.

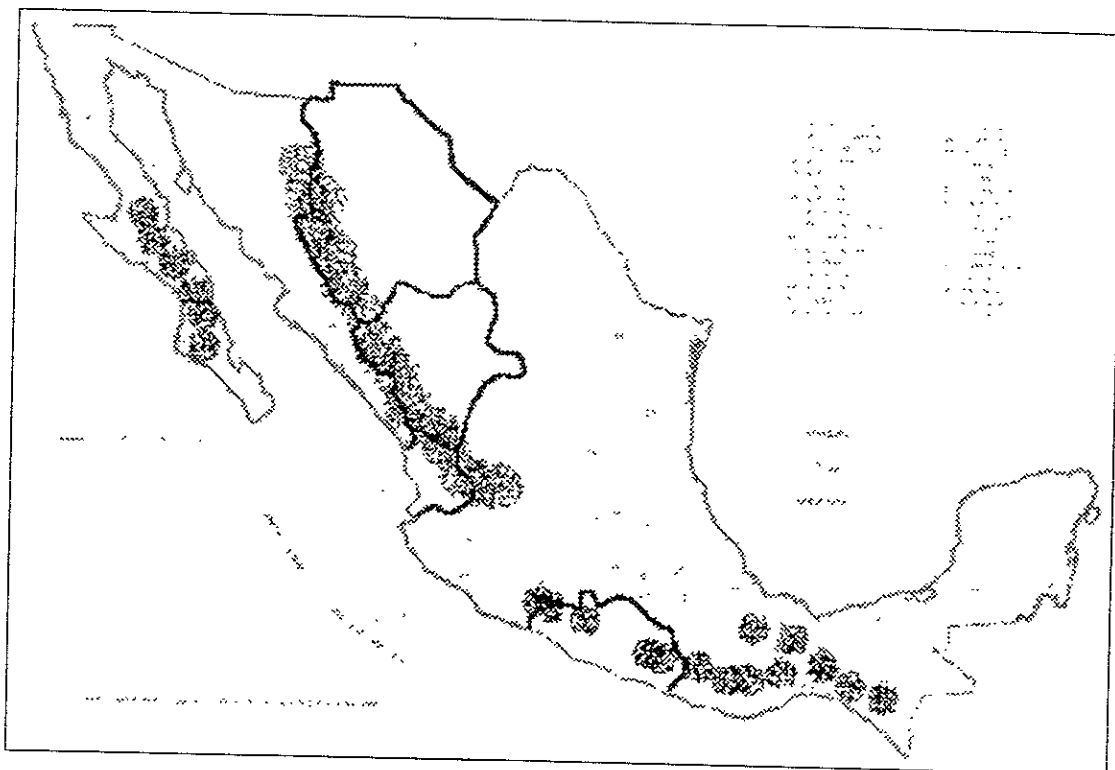


Figura 1 2 Localización actual del ganado bovino criollo en México.

**1.1.6.1.1. Guzerat.** Es originario del territorio de Kankrej en Gujara en la India. Se caracteriza por tener cuernos en forma de lira; su color varía del cenizo claro a cenizo oscuro. En la India se le nombra Kankrej y se le clasifica junto con el Tharparker (Gasque, 1993). Esta raza es traída a América por los portugueses y es en Brasil donde se le denomina Guzerat. En 1923, se importaron los primeros Guzerat y Nellore a México; pero a partir de 1930, se realizaron importaciones masivas que incluyeron las otras razas cebuinas (Vizcarra, 1963; Alves, 1991).

Los animales Guzerat que se incluyeron en el estudio son del Campo Experimental (C.E.) "El Verdineño" del INIFAP. Durante los últimos 30 años se han comprado sementales y semen de toros provenientes de otros criadores mexicanos. Actualmente existen muy pocos criadores de Guzerat con una población de 1500 animales de registro repartidos en 15 hatos (SAGAR, 2000).

**1.1.6.1.2. Brahman.** Esta raza, junto con la IndoBrasil, se consideran como razas "sintéticas" debido a que se originaron por el cruzamiento de varias razas. El origen del

Brahman fue en Texas, EUA. y se conformó con las cruzas de las razas Guzerat, Nellore, Krishna Valley, Gir, Red Sindi e Indubrasil, los cuales fueron traídos de la India y Brasil en cruzamiento absorbentes con Shorthorn, Hereford y Longhorn (Vizcarra, 1963; Alves, 1991). Antes de 1980. en Estados Unidos se conocía como "Brahman" a cualquier animal que tuviera joroba y orejas largas (cebuinos) Y son los criadores mexicanos los que definieron las características de tipo que los distinguen de las demás razas cebuinas. El libro de registro se abrió en 1924 (Vasquez, 1973). Actualmente es una de las razas cebuinas más populares de México por su velocidad de crecimiento, atribuible a un porcentaje no determinado de genes de origen europeo Existen un poco mas de 28 mil machos y 33 mil hembras de registro en un número no determinado de hatos (SAGAR, 2000).

**1.1.6.2. Razas de origen europeo** De las razas que provienen de la Gran Bretaña y las islas del Canal que hay en México, están el Hereford, Angus y Jersey; aunque se pueden encontrar animales Guersey y Ayrshire. De Francia están el Charolais, Limousin, Main Anju, Salers y en menor número la Blonde d'Aquitaine De Italia hay algunos hatos de Chianina, Marchigiana, Romagnola y Piamontesa. De Europa Central están Holstein, Simmental y Suizo Pardo, que son las razas más populares en México, y en los últimos años se ha importado Belgian Blue De Estados Unidos se desarrollaron las razas sintéticas, como el Santa Gertrudis, Beefmaster, Brangus, Simbrah y, en México, fue desarrollado el Tropicarne.

En este estudio se incluyó una raza especializada en producción de carne, Hereford, la cual además fue la primera en ser introducida en el Norte del País y por lo tanto, sus genes pueden estar diluidos con la actual población de criollos; también se incluyeron dos razas especializadas en la producción de Leche con características productivas diferentes: Holstein y Suizo Pardo, la primera ampliamente utilizada en todo el País y la segunda usada principalmente en zonas tropicales en cruza

**1.1.6.2.1. Hereford** Esta raza se formó en los valles del condado que le dio su nombre en Inglaterra (Gasque, 1993). Aunque esta raza se inicio formalmente en 1846 (Vasquez, 1973) se sabe que sus orígenes se remontan desde hace 250 años (Gasque, 1993) Es una de las razas especializadas de carne más populares en los Estados Unidos Las



primeras importaciones de Hereford a México fueron en el último cuarto del siglo XIX y en los últimos 70 años ha habido un flujo continuo tanto de Estados Unidos como del Canadá. Se estima que en 1960. había en el norte del país “3.5 millones de cabezas más o menos puros” (Saucedo, 1984). Sin embargo, como animales registrados hay 326 machos y 652 hembras.

**1.1.6.2.2. Suizo Pardo** Se le reconoce como raza en 1911 (Vasquez, 1993). Originaria de los Alpes suizos, toma diferentes nombres de acuerdo al país en donde se explote. En Europa es utilizada como animal de doble propósito, mientras que EUA la presión de selección fue dirigida a la producción de leche. En México se reconocen dos variedades: el Suizo Americano, que se utiliza en los establos lecheros; y el Suizo Europeo, que se explota en sistemas de doble propósito en el trópico mexicano, principalmente como F1.

**1.1.6.2.3. Holstein.** Es la raza especializada en la producción de leche más difundida en el mundo. Es originaria de Holanda en las provincias de North Holland y West Friesland; y su libro de registro se inició en 1873 (Vasquez, 1973). Aunque los primeros animales de esta raza ingresaron al país durante el porfiriato, fue a partir del triunfo de la Revolución Mexicana cuando se auspició la importación de estos animales, lográndose un gran apoyo a finales de los años treinta (Saucedo, 1984). Al principio las importaciones fueron directamente de Holanda, pero por cuestiones sanitarias, tanto animales como semen han sido americanos y canadienses. Un gran porcentaje de animales importados son "grade", pero el semen proviene de animales de registro.

### **1.1.6.3. Otros grupos genéticos de origen español.**

**1.1.6.3.1. El ganado de Lidia.** Este tipo de ganado fue llevado de Africa a España por los moros (Rouse, 1977), pero, también los Celtas llevaron otro tipo de animales al Norte en Navarra (Mendieta y Miguel, 1996). Este ganado fue seleccionado para conservar su instinto de embestir y fue traído al continente americano (Nueva España) por los españoles por la costumbre de la Fiesta brava

Según Saucedo (1984), en 1522 se importaron 24 reses bravas provenientes de Navarra; pero otro reporte indica que fue en 1552 cuando se traen a la Nueva España los

primeros ejemplares (Vásquez, 1973) con 12 pares de sementales y vacas de la región de Navarra por Juan Gutiérrez Altamirano, primo de Hernán Cortés, fundando así, en Atenco, la primera ganadería de este tipo en México. Esta ganadería fue la única que tuvo ganado de Lidia durante la existencia de la Nueva España. Por lo que la mayoría de los animales lidiados eran criollos. Durante la época posterior a la independencia (1821-1886) existían además de Atenco otras tres ganaderías con animales de origen Navarro, Andaluz y Castellano.

Las Ganaderías de Lidia en México tienen animales cuyos orígenes fueron de 5 líneas: Andaluza-Vistahermosa, Andaluza-Vasqueña, Castellana, Navarra y Mestiza. A partir de 1887 se empiezan a importar sementales de España y algunas vacas Miura (línea Mestiza). Pero de 1905 a 1937 se importaron entre 130 a 140 vacas que fueron a 7 ganaderías en la que sobresale la Punta con 70 vacas de origen Andaluz. Y fue en 1945 cuando se hicieron las últimas importaciones de sementales.

Las ganaderías de reses bravas proceden de 4 núcleos básicos que han dado origen a las demás explotaciones. En 1945 había 60 ganaderías y para 1995 aumento a 285 (Mendieta y Miguel, 1996). La explotación más pequeña es de 20 a 25 vacas con un semental (Ulloa, 1985).

**1.1.6.3.2. Criollo Lechero Centroamericano.** Este tipo de animales se cria en la región de Rivas en Nicaragua y en el área del Río Limón en Venezuela (De Alba, 1987). Los primeros animales de estas regiones provenían de la Nueva España, de una expedición que salió en 1524 de lo que actualmente es el Puerto de Veracruz, México; y por otro lado, hubo un desembarco en Panamá en 1510 de animales que provenían de Jamaica y de ahí a Nicaragua. A Venezuela llegaron de España en 1524, pero también de Puerto Rico y de Panamá (Rousse, 1977). En Turrialba, Costa Rica, se formó un hato experimental con animales de la región de Rivas y la región Choluteca en Honduras. En México fueron importadas 18 vacas del hato formado por Joaquin Reyna (Nicaragua) y dos toros del hato de Turrialba, los cuales fueron llevados al Rancho "El Apuro" cerca de Tampico en 1964, (De Alba y Kennedy, 1994). Posteriormente, se han hecho más importaciones conformándose hatos en el estado de Veracruz y Chiapas.

## 1.2. Polimorfismo Genético a nivel de ADN

**1.2.1. Estructura genómica del bovino.** El genoma bovino mide 2464 CentiMorgans (Bishop *et al.*, 1994), del cual del 10 al 15% lo constituye el ADN que codifica para algún polipéptido (genes) y el resto es material clasificado como intrones, pseudogenes y secuencias repetidas (Singer y Berg, 1991); este ADN ha sido nombrado como egoista, basura, parásito o extra. El ADN repetido puede encontrarse en dos patrones: como copias dispersas en todo el genoma o las copias pueden estar en tandem (Bruford y Wayne, 1993; Studer y Epplen, 1990; Ramel, 1997).

El ADN repetido en tandem se ha clasificado en Repetidos en Tandem de Número Variable (Variable Numbers of Tandem Repeats, VNTR) y repetidos en tandem cortos (Short Tandem Repeats, STR). Estas secuencias han sido utilizadas como marcadores genéticos en proyectos genómicos, medicina forense y estudios evolutivos (Queller *et al.*, 1993; Ramel, 1997).

**1.2.1.1. Repetidos en Tandem de Número Variable.** Estas exhiben un gran polimorfismo. Jeffreys *et al.* (1985ab) nombraron a estas secuencias como "minisatélites", las cuales son muy ricas en citocina y guanina (62%); la mayoría de los VNTR presentan unidades de repetición de 9 a 30 pares de bases (pb), pero algunos llegan a 100 pb (Edwards *et al.*, 1992; Ramel, 1997), y llegan a extenderse a 50 kilobases (Bruford y Wayne, 1993). Los minisatélites se encuentran altamente conservados en la evolución y han sido detectado en un gran número de especies animales (Shin *et al.*, 1985; Vassart *et al.*, 1987; Georges *et al.*, 1988; Ramel, 1997).

La primera de estas regiones hipervariables fue identificada por Wytman y White (Cawood, 1989). Posteriormente, Jeffreys *et al.* (1985a) encontraron, dentro del gen de la mioglobulina humana una secuencia repetida de 33 pares de bases. También se han encontrado regiones hipervariables cerca de las regiones de codificación de los genes de la insulina,  $\alpha$  globulina humana, apolipoproteína B (Buitkamp *et al.*, 1991), así como, en un segmento del genoma del bacteriófago M13 (Georges *et al.*, 1988). Se ha estimado en humanos que su número puede llegar hasta 1500 VNTR's (Ramel, 1997).

Jeffreys *et al.* (1985a) utilizaron secuencias de polinucleótidos derivadas de la encontrada en la mioglobulina (llamadas 33.5, 33.6 y 33.15), las cuales, al emplearlas como

sondas, mostraron patrones de hibridación específicos a los individuos, por lo que le llamaron "DNA fingerprinting" (huellas genéticas). Con un sólo experimento se pueden visualizar simultáneamente muchos loci y sus respectivos alelos (Lynch, 1988).

Los VNTR presentan una gran diversidad genética reportándose valores de heterocigocidad mayores del 90%; y su tasa de mutación tan alta como  $5 \times 10^{-2}$  (Bruford y Wayne, 1993; Queller *et al.*, 1993). Los Minisatélites se localizan principalmente en las regiones subteloómicas y se les ha asociado con puntos de entrecruzamiento de cromátidas durante la meiosis (Ramel, 1997). Por su distribución asimétrica en el genoma, su baja frecuencia y por la dificultad de la determinación de alelos en los esquemas de hibridación tipo Southern, no son útiles en estudios poblacionales, mapeo genético y en la identificación de individuos (Edwards *et al.*, 1992; Queller *et al.*, 1993; Ramel, 1997).

**1.2.1.2. Repetidos en Tandem Cortos.** Otra familia de secuencia de elementos hipervariable comprende secuencias cortas entre 1 y 6 pares de bases, llamados secuencias simples repetidas en tándem, repetidos en tandem cortos (STR) o "microsatélites" (Edwards *et al.*, 1992; Bruford y Wayne, 1993; Queller *et al.*, 1993; Ramel, 1997). Estas secuencias fueron identificadas primeramente en el ADN del rARN murino en 1980 (Studer y Epplen, 1990). Basándose en su secuencia existen varias familias de MS, entre las que se encuentran: (A/T)<sub>n</sub>, (CA/GT)<sub>n</sub>, (TC/AG)<sub>n</sub>, (CAC/GTG)<sub>n</sub> y (GATA/CGAT)<sub>n</sub>, entre otras, donde n es el número de repeticiones y pueden tener de 12 a 35 repeticiones (Studer y Epplen, 1990; Weber, 1990; Edwards *et al.*, 1992; Bruford y Wayne, 1993; Stalling, 1995; Ramel, 1997).

Los MS se extienden por regiones de menos de 200 bases, pero en ocasiones alcanzan varias kilobases. Se observan en las vecindades de los genes y en los intrones (Studer y Epplen, 1990; Stalling, 1995). Aunque se ha sugerido que los MS (CT)<sub>n</sub> puedan ser sitios de anclaje de proteínas nucleares específicas, no ha habido evidencia de que jueguen un papel funcional significativo (Stalling, 1995). Sin embargo, la acumulación de repetidos puede incrementar el riesgo de recombinaciones homólogas entre segmentos y producir translocaciones, pérdidas e inversiones. Los trinucleotidos ricos en GC y CA exhiben una alta inestabilidad sobre todo cuando el alelo es grande, que en X-fragil en humanos es de 70 repetidos (Ramel, 1997).

Los repetidos de dinucleotidos, principalmente (CA)<sub>n</sub>, se encuentran dispersos en todo el genoma y se estima que puede haber alrededor de 35 000 secuencias con 12 o más repetidos, con un espaciamento de 30 Kb en promedio, y menos frecuente (100 Kb) con secuencias más complejas (Valdes *et al.*, 1993; Ramel, 1997). Para identificar los MS se hace por clonación-tamizado-secuenciación o revisando las bases de datos de secuencias ya reportados (Bruford y Wayne, 1993; Queller *et al.*, 1993).

El nivel de conservación de los repetidos (CT)<sub>n</sub> en sitios idénticos en secuencias ortólogas en genomas de mamíferos distantes es del 28% comparado con el 30% para arreglos AC; y en especies cercanas el nivel de conservación es mayor (Bruford y Wayne, 1993; Stallings, 1995). De ahí que para los estudios de diversidad genética (DaDiS) propuesta por la FAO, se ha podido recomendar MS que puedan ser amplificados, con los mismos iniciadores, en varias especies por ejemplo: bovinos, ovinos y caprinos (Barker, 1994).

Weber (1990) clasificó las secuencias de dinucleotidos CA en cuatro categorías: secuencias de repetidos perfectos, son secuencias de CA sin interrupción y sin otras secuencias de repetidos adyacentes; repetidos imperfectos, son dos o más secuencias ininterrumpidas separadas por al menos 3 bases no repetidas; y secuencias compuestas, son secuencias de repetidos que están separadas cuando menos de 3 bases no repetidas de otra secuencia distinta a CA, y puede ser perfecta o imperfecta, de acuerdo al estatus del bloque de (CA).

Se considera que el Contenido de Información Polimórfica (PIC) se incrementa con el tamaño o número de repetidos (Weber, 1990); sin embargo, Valdes *et al.* (1993) estudiaron 108 MS en humanos y no encontraron correlación entre el número de alelos y el tamaño promedio de los alelos.

La tasa de mutación de los microsátelites es de  $10^{-4}$  a  $5 \times 10^{-6}$  (Bruford y Wayne, 1993) y se observa una mayor tasa en lo dinucleotidos (Valdes *et al.*, 1993). Se proponen dos mecanismos en la generación de nuevos alelos: el intercambio desigual en la meiosis y el dislocamiento o deslizamiento de la polimerasa en la replicación (Bruford y Wayne, 1993; Valdes *et al.*, 1993). Por otro lado, se han detectado nuevos alelos con longitudes que no son múltiplos del repetido, y se debe a la inserción o pérdida de una base en las secuencias

adyacentes a los repetidos (Clemens *et al.*, 1991); sin embargo, si las pérdidas de nucleótidos se dan en la zona de los iniciadores, no habrá ningún amplificado produciéndose un alelo "nulo" el cual es difícil de detectar y puede dar como resultado una deficiencia de heterocigotos al ser genotipificados como homocigotos (Bruford y Wayne, 1993).

Los MS pueden ser amplificados de muestras tomadas por técnicas no invasivas e incluso en muestras degradadas, de ahí que son considerados de gran utilidad en estudios poblacionales, de ligamiento, de identificación de individuos y detección de enfermedades (Edwards *et al.*, 1992; Bruford y Wayne, 1993; Queller *et al.*, 1993; Barker, 1994; Clemens *et al.*, 1991; Bowcock *et al.*, 1994). Actualmente están reportados 2785 de estos marcadores en bovinos (Barendse *et al.*, 1994; Eggen and Fries; 1995; Eggen and Weiss 1998).

Los MS tienen las características del marcador genético ideal debido a que los alelos son codominantes, medidos con gran exactitud y con una gran variación. (Queller *et al.*, 1993). Claramente se ha demostrado la superioridad de los MS como marcadores sobre los polimorfismos de proteína, debido al mayor número de alelos y heterocigocidades. Aproximadamente se requieren 10 MS para alcanzar una tasa de error medio del 5% comparado con cerca de 65 marcadores con dos alelos. Con el uso de los MS permite una diferenciación más clara entre razas relacionadas y un incremento de la exactitud de la medición de las divergencias (Paszek *et al.*, 1998; Blott *et al.*, 1999).

**1.2.2. Mutación.** Es el cambio en la secuencia de ADN que es debido a errores en la duplicación o falla en la reparación del material genético. Los cambios se deben a la pérdida o inserción de uno o más nucleótidos y la sustitución de un nucleótido por otro, denominadas transiciones y transversiones. Las transiciones es la sustitución de una purina ( adenina o guanina) por otra purina o la sustitución de una pirimidina ( timina y citocina) por otra pirimidina; mientras que la transversión incluye los otros tipos de sustitución nucleotídica La sustitución es el tipo de mutación más frecuente. Sin embargo, la tasa relativa de mutación en los cambios transicionales es mucho más alta (59.3%) que la esperada (33.3%). Si bien los 8 tipos de cambios transversionales ocurren más o menos con la misma frecuencia, los cambios de G → T y de C → A son los más comunes

**1.2.2.1. Modelo de Mutación Infinito.** Este modelo propuesto por Kimura, consiste en que la formación de un nuevo alelo es siempre diferente de los existentes en la población y no esta condicionada al gen original (Takesaki y Nei, 1996). El patrón de mutación de los genes que son tipificados por métodos inmunológicos y los VNTR se ajustan bien a este modelo (Bruford y Wayne, 1993, Valdes *et al.*, 1993).

**1.2.2.2. Modelo de Mutación por pasos o Stepwise.** Este modelo fue propuesto por Otha y Kimura siguiendo la sugerencia hecha por Bulmer en 1971 al observar que muchos loci de proteínas observadas en electroforesis se distinguía un alelo más frecuente con movilidad intermedia y varios alelos menos frecuentes con movilidades distribuidas más o menos en forma simétrica con respecto al alelo común. El modelo supone que existe una población de  $N$  individuos diploides con locus autosomal cuyos alelos se distinguen por un entero,  $i$ , que indica el número de unidades repetidas. En cada generación, un alelo puede mutar a otra clase alélica. En el caso más simple, el modelo de un paso, se supone que  $i$  puede incrementar o decrecer por uno con probabilidad de  $u/2$  por generación; en el modelo de dos pasos,  $i$  se incrementa o reduce por 2 con probabilidad  $v/2$  (Valdes *et al.*, 1993, Takesaki y Nei, 1996)). Basándose en este modelo, se han llevado a cabo diversos estudios para comprobar el ajuste; se ha encontrado que el modelo de mutación "Stepwise" o por pasos se ajusta mejor en repetidos de 3-5 bases seguido por los de dos (Bruford y Wayne, 1993, Valdes *et al.*, 1993; Golstein *et al.*, 1995; MacHugh, 1996).

### **1.3. Diversidad Genética.**

El estudio genético de poblaciones se basa en conocer la variación genética dentro y entre poblaciones. Hay cuatro medidas de variación genética que han sido utilizadas: número de alelos, número de loci polimórficos, heterocigocidad y, últimamente para el caso de MS, la varianza en el número de repeticiones (Nei, 1987; Metter *et al.*, 1988; Hanslik *et al.*, 2000).

**1.3.1. Diversidad Genética intrapoblacional.** Una medida de variación que ha sido usada es la proporción de loci polimórficos. Arbitrariamente se dice que un locus es polimórfico cuando la frecuencia del alelo más común es igual o menor a 0.95 ó 0.99 (Falconer, 1981; Nei, 1987; Mettler *et al.*, 1988). Esto no es aplicable si el tamaño de la muestra no es grande  $n < 50$  (Nei, 1987). Crow y Kimura (1970) proponen como medida de

diversidad genética al número efectivo de alelos ( $n_e$ ) y representa al número de alelos que realmente contribuyen a la heterocigocidad. En el caso de polimorfismo bioquímicos, el valor de  $n_e$  generalmente es menor a 2, ya que la mayoría de los loci presentan 2 alelos. En cambio los MS el valor es mayor de dos.

La heterocigocidad promedio o diversidad genética es una mejor medida ya que no depende de la definición de polimorfismo y esta definida en términos de frecuencia génica (Nei, 1987). La definición es:

$$\hat{h} = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2$$

donde  $m$  es el número de alelos y  $x$  es la frecuencia del  $i$ -ésimo alelo. Hay que notar que la heterocigocidad es  $1 - 1/n_e$

Cuando el tamaño de la muestra es pequeña ( $n < 50$ ), un estimador insesgado de  $h$  es

$$\hat{h} = 2n \left( 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2 \right) / (2n - 1)$$

(Nei, 1987).

Cuando el estudio involucra varios loci, se obtiene una diversidad genética promedio ( $\bar{h}$ ) de la siguiente manera:

$$\hat{H} = \frac{1}{r} \sum_{j=1}^r \hat{h}_j$$

donde  $r$  es el número de loci.

La varianza muestral de  $\hat{H}$  se obtiene

$$V(\hat{H}) = V(\hat{h})/r$$



donde

$$V(\hat{h}) = \frac{\sum_{j=1}^r (\hat{h}_j - \hat{H})^2}{(r - 1)}$$

### 1.3.2. Diversidad Genética entre poblaciones.

**1.3.2.1. Diferenciación de poblaciones.** Una población "grande" es una condición teórica que se establece para poder derivar los cambios en las frecuencias génicas en condiciones reales. La diferenciación entre poblaciones es el resultado de varias combinaciones de fuerzas que cambian las frecuencias como son: Selección ya sea natural o artificial, Migración, Deriva Génica y Mutación

Una población genética es un grupo espacio-temporal de individuos que se entrecruzan. Las poblaciones de animales (plantas) silvestres ocupan una determinada superficie limitada por barreras geográficas como ríos, montañas, etc., las cuales son llamadas poblaciones mendelianas locales o demes o simpátricas. (Mettler *et al.*, 1988). Pero, cuando animales de la misma especie están geográficamente aislados y, además, sujetos a diferentes presiones de selección resultado de la adaptación a los diversos ambientes, llegan a constituir poblaciones llamadas alopátricas. Una raza es una población alopátrica con diferencias suficientes que la distinguen de otra. El caso extremo en la diferenciación es la especiación alopátrica.

Cuando se tienen varias poblaciones simpátricas, y estas son pequeñas, se presentan fluctuaciones aleatorias de las frecuencias alélicas debidas a un proceso de muestreo en un pequeño grupo aislado de animales; a esto se le conoce como Deriva Génica. En el modelo de una población grande, de N individuos, que se divide en unidades pequeñas (subpoblaciones) se observan cambios al azar de las frecuencias génicas en cada una de ellas. La magnitud y la dirección de los cambios no se pueden predecir. A través del tiempo, dentro de cada subpoblación los alelos se fijarán o perderán, pero, en la población total, las frecuencias alélicas promedio tenderán a ser igual a las frecuencias en la población original. La varianza dentro de cada unidad se reducirá de generación en generación, pero,

la varianza entre subpoblaciones se incrementará como pasa el tiempo. Esta variabilidad se cuantifica con la varianza de Wahlund

La varianza de Wahlund ( $V_W$ ) en el caso de un locus con dos alelos, con frecuencia génica  $x_1$  y  $x_2$ , respectivamente; con  $s$  subpoblaciones,

$$V_W = \sum_{k=1}^S w_k (x_k - \bar{x})^2 / (\bar{x}_1 \bar{x}_2)$$

Donde  $w_k$  es el tamaño relativo de la  $k$ -ésima subpoblación.  $V_W$  es una medida de la desviación de la panmixia y es idéntico al coeficiente de endogamia o consanguinidad ( $F$ ). Wahlund, en 1927, observó un incremento de los homocigotos que al esperado en el caso del equilibrio de Hardy-Wienberg, al considerar todas las líneas juntas (Spiess, 1980; Nei, 1987).

La subdivisión de la población de ganado bovino se ha hecho artificialmente con la creación de Libros de Registro conformándose las razas. Una raza, a su vez, puede estar constituida por varias unidades reproductoras o líneas (subpoblaciones) que son generadas por barreras geográficas o artificiales. Por otro lado, en el caso de poblaciones de animales no clasificados como raza, como el caso del ganado criollo, la subdivisión ha sido por barreras geograficas (montañas, ríos, etc.) o aislamiento por distancia.

El apareamiento entre animales dentro de grupos pequeños, aunque sea aleatorio, necesariamente conducirá a progenie con un cierto grado de consanguinidad. Las poblaciones pequeñas evolucionan rápidamente porque la deriva genética y la consanguinidad pueden magnificar rápidamente los efectos de la selección y el establecimiento de nuevos genotipos producidos por recombinación (Mettler *et al.*, 1988).

Sewall Wright propuso unos índices de fijación, también llamados Estadísticas  $F$ , los cuales son:  $F_{IT}$ ,  $F_{IS}$ ,  $F_{ST}$ . para estudiar la estructura de las poblaciones.

Si  $S$  es una subpoblación derivada por aislamiento de un número finito de individuos ( $I$ ) de una gran población total  $T$ .

$F_{IT}$  es la consanguinidad total de la población;  $F_{IS}$  es el grado de endogamia relativo a la subpoblación, es la endogamia difusa y es la probabilidad de que dos genes vengan de un

ancestro común conocido en la población; y  $F_{ST}$  es la probabilidad de que si 2 genes son aleatoriamente escogidos dentro de la subpoblación, sean idénticos por alguna relación remota,  $F_{ST}$  es una medida del grado de diferenciación de subpoblaciones y es igual a la varianza de Walhund (Crow y Kimura, 1970; Falconer, 1981; Spiess, 1983; Nei, 1987)

Nei (1987) demostró que todos los índices de fijación pueden ser definidos usando las heterocigocidades observadas ( $h_o$ ) y esperadas ( $h_s$ ) en la población estudiada. De tal forma que la heterocigocidad observada, cuando hay  $s$  subpoblaciones y se estudia un locus, es

$$\hat{h}_o = 1 - \sum_{k=1}^s \sum_{i=1}^m \hat{X}_{ki} / s$$

donde  $X_{ki}$  es la frecuencia observada del homocigoto de  $i$ -ésimo alelo en la  $k$ -ésima subpoblación. La heterocigocidad esperada es

$$\hat{h}_s = \frac{\tilde{n}}{\tilde{n}-1} \left[ 1 - \sum_{i=1}^m \left( \sum_{k=1}^s x_{ki}^2 / s \right) - \frac{\hat{h}_o}{2\tilde{n}} \right]$$

y  $\tilde{n}$  es la media armónica del número de individuos en la  $k$ -ésima subpoblación; y,

$$\hat{h}_T = 1 - \sum_{i=1}^m \left( \sum_{k=1}^s x_{ki} / s \right)^2 + \frac{\hat{h}_s}{\tilde{n}s} - \frac{\hat{h}_o}{2\tilde{n}s}$$

De modo que los índices de fijación se calculan como:

$$\hat{F}_{IS} = 1 - \hat{h}_o / \hat{h}_s ;$$

$$\hat{F}_{IT} = 1 - \hat{h}_o / \hat{h}_T ; \text{ y}$$

$$\hat{F}_{ST} = 1 - \hat{h}_s / \hat{h}_T .$$

Los índices de fijación se relacionan con la siguiente fórmula:

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

La magnitud relativa de diferenciación genética entre poblaciones se mide con

$$\hat{G}_{ST} = \hat{D}_{ST} / \hat{h}_T$$

donde

$$\hat{D}_{ST} = \hat{h}_T - \hat{h}_S$$

y constituye la diversidad genética promedio entre subpoblaciones.

#### 1.4. Distancia Genética.

La Distancia Genética es la magnitud de las diferencias genéticas o genómicas entre poblaciones y que es medida con alguna cantidad numérica. El número de sustituciones nucleotídicas por sitio o el número de sustituciones génicas por locus es una medida de distancia genética (Nei, 1987)

El concepto de distancia genética fue usado primeramente por Sanghvi en, 1953; pero anteriormente ya se habían propuestos medidas para estudiar la similitud entre poblaciones como el trabajo de Czekanoswski en 1903 y Pearson en 1919 (Nei, 1987).

En 1948, Fisher introdujo las funciones discriminante para la diferenciación de razas, y Witt y Döring en 1955 trataron de diferenciar líneas de Frisonas Alemanas utilizando mediciones corporales. Pero es a partir de 1957 cuando se empieza a desarrollar lo que se conoce como Taxonomía Numérica, siendo Sneath y Sokal de los pioneros (Sneath y Sokal, 1982).

Las distancias genéticas se han desarrollado para clasificar poblaciones y para estudios evolutivos. Las investigaciones pueden estar al nivel de especies, semiespecies, subespecies y razas. Una descripción de raza consiste en la especificación del color y de características de tipo; las cuales son altamente heredables e independientes a las influencias ambientales. Sin embargo, es un gran error suponer que las diferencias raciales están en esas características obvias, cuando existen diferencias en características económicas muy importantes. Desgraciadamente, muchas de esas características están fuertemente influenciadas por el ambiente y tienen una gran. Variación.

Una descripción de razas idealmente consistiría en la caracterización y enumeración de los genotipos en términos de todas las secuencias de ADN. Cuando tenemos datos genéticos de varias poblaciones, es natural preguntar: ¿Qué tan similares son estas poblaciones?

Se han propuesto muchas medidas de distancia para clasificar poblaciones o hacer estudios evolutivos; se pueden clasificar en distancias geométricas, las basadas en el índice de fijación  $F_{st}$  de Wright, las que miden el número de sustituciones génicas (significado biológico), las basadas en la teoría informacional y las basadas en el modelo de mutación por pasos.

**1.4.1 Distancias Geométricas.** Estas medidas fueron utilizadas primeramente para caracteres cuantitativos; pero, pueden ser usadas para frecuencias génicas. Es común tratar de representar estas diferencias en un espacio Euclidiano tridimensional o multidimensional. Para lo cual es necesario que las distancias sean métricas; es decir, que deben satisfacer 4 axiomas en el conjunto de Unidades Taxonómicas Operativas (UTO).

Si  $d_{ij}$  es la distancia entre el UTO  $i$  y el UTO  $j$ , entonces debe de cumplir con:

- 1.-  $d_{ij}$  debe ser mayor o igual a 0 y  $d_{ii} = d_{jj} = 0$ .
- 2.-  $d_{ij} = d_{ji}$
- 3.-  $d_{ij}$  es menor o igual a  $d_{ik} + d_{jk}$  (desigualdad del triángulo).
- 4.- es ultramétrica si  $d_{ij}$  es menor o igual al  $\max(d_{ik}, d_{jk})$ .

En 1909, Czekanowki propuso una distancia para caracteres cuantitativos, pero útil en las frecuencias génicas. La diferencia media de Czekanowki es:

$$C_z = \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m x_i - y_i$$

donde  $x_i$  y  $y_i$  son las frecuencias génicas del  $i$ -ésimo alelo en un locus de la población X y la Y, respectivamente; y  $m$  es el número de alelos ( Nei, 1987). Una versión es la métrica de Manhattan (Sneath y Sokal, 1982; Nei, 1987)

$$C_M = \sum_{i=1}^m |x_i - y_i|$$

La Distancia Taxonómica o Euclideana representa las poblaciones X y Y en un espacio m-dimensional y esta dado por :

$$D_E = \left[ \sum_{i=1}^m (x_i - y_i)^2 \right]^{1/2}$$

(Sneath y Sokal, 1982; Nei, 1987).

Esta medida tiene el inconveniente de que toma valores entre 0 y  $(2)^{1/2}$ . Rogers (citado por Nei, 1987) introduce una modificación a fin de que el límite superior llegue a 1 y consiste en

$$D_r = \left[ \frac{1}{2} \sum_{i=1}^m (x_i - y_i)^2 \right]^{1/2}$$

Estas distancias no son proporcionales al tiempo evolutivo o número de sustituciones génicas.

La ampliamente usada Distancia de Mahalonobis en 1936 (citado por Nei, 1987) fue desarrollada para un análisis cuantitativo multivariado y es la distancia geométrica entre 2 poblaciones representadas en un espacio m-dimensional. La modificación para datos de frecuencias génicas consiste en excluir el m-ésimo alelo en cada locus para construir la matriz de varianzas-covarianzas. (v). La primer distancia fue propuesta por Sanghvi en 1953 (citado por Nei, 1987), que para la situación de un locus con m alelos,  $x_i$  y  $y_i$  son las frecuencias del i-ésimo alelo de la población X y la Y, respectivamente; y se reduce a:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^m \frac{(x_i - y_i)^2}{\left( \frac{x_i + y_i}{2} \right)}$$

Posteriormente, en 1968, Balakrishnan y Sanghvi (citados por Nei, 1987) introducen otra definición de la matriz  $v$  en donde se incluye el tamaño de la muestra; y es llamada  $B^2$ .

La distancia de Sanghvi toma el valor de 0 cuando ambas poblaciones son idénticas; pero, cuando no tienen ningún alelo en común el valor es de 4. Este estadístico depende de las frecuencias alélicas de las poblaciones comparadas; mientras que  $B^2$  varia dependiendo de que otras poblaciones están siendo incluidas y, además, existe una dependencia con el tamaño de la muestra.

Bhattacharyya, en 1946 (citado por Nei, 1987), midió la magnitud de diferenciación en términos del ángulo ( $\theta$ ) entre las dos líneas proyectadas del origen a las 2 poblaciones (X y Y) con  $m$  alelos y sobre la superficie de una hiperesfera multidimensional. Debido a que

$$\text{Cos } \theta = \sum_{i=1}^m (x_i y_i)^{1/2}$$

Entonces, la medida es

$$\theta^2 = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^m \frac{(x_i - y_i)^2}{(x_i + y_i)}$$

Esta medida está relacionada estrechamente con la distancia de Sanghvi y corresponde a  $1/4$  de  $\chi^2$ , por lo que toma un valor entre 0 y 1.

Por su parte, Cavalli-Sforza y Edwards (1967) usan la transformación angular, pero, proponen como distancia genética entre dos poblaciones como el largo de la cuerda entre los puntos X y Y sobre la hiperesfera multidimensional. La distancia es

$$D_c = \left( \frac{2}{\pi} \right) [2(1 - \cos \theta)]^{1/2}$$

donde  $\pi$  es 3.1416

Sin embargo, Nei (1987) considera que el dividir la longitud de la cuerda entre  $\pi/2$  no tiene significado. Y para que la distancia este entre 0 y 1 debería ser  $(1 - \text{Cos } \theta)^{1/2}$ . Cuando se tiene  $r$  loci y para que el valor de la distancia quede entre 0 y 1, Nei *et al.* (1983) proponen lo siguiente:

$$D_A = \sum_{k=1}^r \left( 1 - \sum_{i=1}^{m_i} \sqrt{x_{ik} y_{ik}} \right) / r$$

La relación de  $D_c$  con el tiempo evolutivo no es lineal; así mismo, como  $D_A$  alcanza un valor máximo de 1, se relaciona en forma no lineal con el número de sustituciones génicas, pero cuando  $D_A$  es pequeña ésta se incrementa más o menos en forma lineal. En estudios de simulación en proteínas y microsatélites se ha encontrado que  $D_A$  recupera con mayor probabilidad la verdadera topología de un árbol filogenético (Nei *et al.*, 1983; Takesaki y Nei, 1996)

**1.4.2. Medidas de Distancia basadas en el índice de Wright  $F_{ST}$ .** Sewall Wright propuso como medida de la diferenciación poblacional los índices de fijación ( $F_{ST}$ ). En el caso que se tiene una población original, la cual se divide en un gran número de demes y que a través del tiempo (t) en ausencia de migración, mutación y selección, y que además, el tamaño de cada subpoblación permanece constante (N) en apareamiento aleatorio.  $F_{ST}$  está definido como:

$$F_{ST} = 1 - e^{-t/2N}$$

donde e es la base del logaritmo natural.

El índice  $F_{ST}$  no es una medida de distancia genética ya que está definido para muchas poblaciones. Aunque se puede definir para 2 poblaciones, tiene algunos problemas. Latter propone un estimador de  $F_{ST}$  para dos poblaciones con alelos múltiples (Nei, 1987). El valor de la medida va de 0 a 2 y es el siguiente:

$$\phi' = \frac{\sum_k \sum_i (x_{ik} - y_{ik})^2 / r}{2 \left( 1 - \sum_k \sum_i x_{ik} y_{ik} / r \right)}$$

donde r es el número de loci,  $m_k$  es el número de alelos en el k-ésimo locus,  $x_{ik}$  y  $y_{ik}$  es la frecuencia del i-ésimo alelo del k-ésimo locus en la población X y Y, respectivamente.

Cavalli-Sforza (1969) relacionó la transformación angular de Bhattacharyya con  $F_{ST}$  y propuso como medida de distancia genética

$$f_\theta = 4(1 - \cos\theta)/(m - 1)$$



donde

Esta medida varía de 0 a 4 y su relación con el tiempo es aproximadamente lineal

$$\text{Cos } \theta = \sum_{i=1}^m (x_i y_i)^{1/2}$$

cuando el periodo evolutivo es corto (Nei, 1987).

**1.4.3. Medidas con significado biológico.** Cuando se comparan 2 secuencias homólogas de organismos distantemente relacionados, el efecto del polimorfismo dentro de poblaciones no se toma en cuenta al estimar el número de sustituciones de nucleótidos o de aminoácidos. Sin embargo, cuando las diferencias genéticas entre poblaciones muy relacionadas, el número de sustituciones por sitio de codón es muy pequeño en estos casos. Por lo que es necesario examinar un gran número promedio de diferencias de codones entre y dentro de poblaciones. Ante la imposibilidad de secuenciar muchos genes, es posible estimar el número de diferencias de codones por locus a partir del polimorfismo observado en estudios electroforéticos de isoenzimas, así como de grupos sanguíneos (Nei, 1987).

El principio básico consiste en que la diferencia alélica en la movilidad electroforética o reacción inmunológica está causada por al menos un cambio en el codón a nivel génico, por lo que el número promedio de diferencias en los codones por locus puede estimarse de las frecuencias alélicas. Cabe mencionar que la electroforesis detecta entre el 25 al 33% de las sustituciones de aminoácidos en las proteínas.

Nei propuso una medida del número mínimo de diferencias de codones por locus la cual llamó Distancia Genética Mínima ( $D_m$ ).

Si  $x_i$  y  $y_i$  son las frecuencias del alelo  $A_i$  en la población X y Y respectivamente.

Entonces, la probabilidad ( $j_{XY}$ ) de que al escoger un alelo de la población X y uno de la

población Y, sean iguales es  $j_{XY} = \sum_{i=1}^m x_i y_i$  y la probabilidad de que sean diferentes

$1 - \sum_{i=1}^m x_i y_i$ . Entonces  $d_{XY} = 1 - \sum_{i=1}^m x_i y_i$ ; y da el número mínimo de diferencias de codones.

Sin embargo, al existir polimorfismo, dos alelos tomados al azar de la misma población no

siempre son los mismos, de modo de que es necesario corregir las diferencias de codones intrapoblacionales de  $d_{xy}$  para obtener la diferencia de codones mínima neta.

El número mínimo de diferencias de codones entre dos alelos tomados al azar en la población X esta dado por  $d_x = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2$ ; y la probabilidad de que sean los mismos alelos es  $j_x = \sum_{i=1}^m x_i^2$ ; del mismo modo, para la población Y,  $d_y = 1 - \sum_{i=1}^m y_i^2$ ; y  $j_y = \sum_{i=1}^m y_i^2$ . Por lo tanto, el número de diferencias de codones mínimas netas entre dos poblaciones esta dado por :

$$d = d_{xy} - (d_x - d_y)/2$$

y en términos de frecuencias alélicas se reduce a

$$d_{xy} = \sum_{i=1}^m (x_i - y_i)^2 / 2$$

Cuando se estudian varios loci (s), se obtiene el promedio, donde  $J_{xy}$ ,  $J_x$  y  $J_y$ , son los promedios sobre los s loci de  $j_{xy}$ ,  $j_x$  y  $j_y$ , respectivamente. Entonces la distancia mínima es

$$D_m = (1 - J_{xy}) - [(1 - J_x) + (1 - J_y)] / 2$$

Esta medida tiene la desventaja de que cuando hay polimorfismo intrapoblacional y las dos poblaciones tienen diferentes alelos, el valor de la distancia genética mínima  $D_m$  considerablemente más pequeño que 1. Es decir, que  $D_m$  subestima considerablemente las diferencias de codones cuando la  $D_m$  es cercano a 1. Cuando el tamaño de la muestra no es grande  $D_m$  sobreestima la diferencia y el sesgo se elimina de la siguiente manera:

$$D_m = 1/2(J_x + J_y) - J_{xy}$$

donde  $J_{xy}$  es el promedio de  $j_{xy} = \sum_{i=1}^m x_i y_i$ , sobre todos los loci examinados; mientras que:

$$J_x \text{ es el promedio de } j_x = (2n_x \sum_{i=1}^m x_i^2 - 1) / (2n_x - 1); \text{ y}$$

$J_y$  es el promedio de  $j_y = (2n_y \sum_{i=1}^m y_i^2 - 1) / (2n_y - 1)$ .

La distancia genética estandarizada ( $D_S$ ) también propuesta por Nei, no subestima la diferencia de codones y esta dada por :

$$D_S = -\log_e I,$$

donde

$$I = J_{xy} / (J_x J_y)^{1/2}$$

donde  $J_{XY}$ ,  $J_X$  y  $J_Y$  estan definidos como en la distancia mínima.

El numerador equivale a la identidad génica de Sneath; por lo que  $I$  se conoce como Identidad normalizado (estandarizado) de genes.  $I$  toma el valor de 1 cuando las dos poblaciones tienen idénticas frecuencias génicas, y de 0 cuando no comparten alelos; mientras que  $D_S$  varía de 0 a infinito.

Las dos medidas anteriores tienen el supuesto que la tasa de sustitución génica es la misma para todos los loci. Cuando el supuesto no se cumple se utiliza la Distancia Genética Máxima ( $D_v$ ), donde

$$D_v = (1 - I) / I$$

Debido a que la distribución de  $I$  se aproxima a una binomial la variancia (Var) de  $I$  es:

$$\text{Var}(I) = I(1-I);$$

$$\text{Var}(D_S) = (1-I) / (I r); \text{ y al}$$

$$\text{Var}(D_v) = (1-I) / (I^3 r);$$

Donde  $r$  es número de loci; mientras que la varianza de la distancia genética mínima es:

$$\text{Var}(D_m) = \frac{1}{r} \sum_{k=1}^r (d_k - \hat{D}_m)^2 / (r-1)$$

**1.4.4. Medidas basadas en la Teoría Informacional.** Se han desarrollado coeficientes de similitud que intentan tomar en cuenta la distribución de las frecuencias de los estados del carácter sobre un grupo de UTO's. La filosofía es que la concordancia entre caracteres raros es un evento menos probable que los caracteres más frecuentes y deberían, por tanto, estar ponderados más fuertemente.

Basados en la naturaleza probabilística del muestreo fitoecológico, se han introducido conceptos de la Teoría informacional basado en las frecuencias o probabilidades de ocurrencia de varias especies sobre la colección dentro de un trabajo taxonómico numérico.

Las medidas de información, más que una medida del conocimiento acerca de un grupo es una medida de desorden, confusión o varianza, también llamada entropía (Sneath y Sokal, 1973).

Una medida de desorden o entropía Shannoniana usada como medida de diversidad para el i-ésimo carácter es

$$H_i = - \sum_{j=1}^{m_i} p_{ij} \ln(p_{ij})$$

donde  $p_{ij}$  es la frecuencia del j-ésimo alelo del i-ésimo loci, y ln es logaritmo natural.

Kazarinova-Fukshanky y Hummel (1991) proponen como medida de distancia genética la Desviación de Kullback también llamada ganancia informacional o entropía ponderada. Esta medida estocástica es invariante con respecto a la unión de subdivisión de loci, lo que no sucede con las distancias geométricas o las propuestas por Nei. Las distancias genéticas propuestas fueron desarrolladas para el caso de un locus y que son aplicadas para la situación multiloci utilizando para ello reglas de asociación arbitrarias.

Comparan tres distancias geométricas ( $D^2$ ,  $E^2$ ,  $f(\theta)$ ) y  $D_S$  y  $D_v$  que tienen significado biológico para lo cual consideran dos loci (A y B). Si los loci son independientes son considerados como un 'superlocus' con la frecuencia de haplotipo conocida. Los 'alelos' del 'superlocus' son : AB, Ab, aB y bb cuyas frecuencias suman 1.

Las reglas de asociación en el caso multiloci para las distancias geométricas es la suma y, para las distancias propuestas de Nei, son la media aritmética ( $D_S$ ) y la media geométrica ( $D_V$ ), las cuales no cumplen con la transitividad de las distancias genéticas con respecto a la unión y subdivisión de los loci. Los autores propusieron otra medida de distancia.

La distancia es:

$$D_K = \sum_{i=1}^m (x_i - y_i) \ln(x_i / y_i)$$

Aunque esta distancia es métrica, no obedece la desigualdad del triángulo debido a que no está geoméricamente basada.  $D_K$  muestra que tan distintas son las poblaciones  $X$  y  $Y$ . La desviación de Kullback puede dividirse en dos partes:

$$D_K = \sum_{i=1}^m x_i \ln(x_i / y_i) + \sum_{i=1}^m y_i \ln(y_i / x_i)$$

La primera parte corresponde a la entropía de la distribución de frecuencias de la población  $x$  ponderada por la distribución de la población  $y$ ; el segundo término muestra la relación opuesta.

Cuando se tiene  $r$  loci, la medida es aditiva cuando los loci son independientes:

$$K_{XY} = \sum_{k=1}^r K_k$$

**1.4.5. Distancias basadas en el Modelo de Mutación por Pasos (Stepwise Mutation Model).** Con el supuesto de que un nuevo alelo de los MS están condicionados por el tamaño original del repetido, Golstein *et al.* (1995a) proponen una nueva distancia genética:

$$(\delta\mu)^2 = \sum_{j=1}^r (\mu_{x_j} - \mu_{y_j})^2 / r$$

donde  $r$  es el número de loci,  $\mu_x$  y  $\mu_y$  los tamaños promedios del  $j$ -ésimo microsatélite de las poblaciones X y Y.

Esta distancia genética es básicamente la misma que la empleada por Heincke en 1918 (Sneath y Sokal, 1973, Nei, 1987).

### 1.5. Estudios filogenéticos en bovinos.

Los primeros estudios filogenéticos se basaron en medidas morfológicas, especialmente las craneales (Kidd y Pirchner, 1971). Posteriormente con el desarrollo de las técnicas inmunológicas y de electroforesis en 1966 (Mettler *et al.*, 1988), se han utilizado los polimorfismos de las proteínas de los eritrocitos, leucocitos, plasma sanguíneo, leche y enzimas (Pirchner, 1981). Este tipo de estudios es costoso y laborioso ya que pueden necesitarse cuando menos 20 proteínas con sendos análisis de electroforesis (Kidd *et al.*, 1980). En los últimos 30 años, se han reportado estudios utilizando la información de polimorfismos de proteínas que se ha estado generando en forma sistemática, específicamente en los países europeos para los controles en la paternidad de los animales.

Por ejemplo, Kidd y Pirchner (1971) utilizaron 12 loci de grupos sanguíneo para estimar las distancias genéticas en razas austríacas; Kidd *et al.* (1980) estudiaron 20 sistemas polimórficos en ganado ibérico; mientras que Manwell y Baker (1980) relacionan grupos raciales europeos, asiáticos y africanos.

Azuara (1982) realizó un estudio de la hemoglobina, albúmina y transferrinas en 5 hatos de criollo mexicano y comparó las frecuencias encontradas entre estos grupos y con las frecuencias reportadas de estos grupos sanguíneos en la Rubia Gallega, Pirenaica, Retinta y Longhorn. No se llegó a la estimación de una distancia genética, concretándose a medir subjetivamente el parecido entre los grupos.

Kotze y Muller (1994) estudiaron 8 sistemas sanguíneos y tres proteínas en un estudio de 24 razas en Sudáfrica. Recientemente Blott *et al.* (1998b) reportan las relaciones entre 37 razas europeas con 18859 animales que nacieron de 1980 a 1995 para lo cual utilizaron

albúmina y transferrina sérica y 7 sistemas de eritrocitos (A, B, C, F, L, S y Z), todos ellos localizados en cromosomas distintos.

También, las proteínas de la leche se han usado para estudios de diversidad como son los de Graml *et al.* (1986) en ganado africano Baladi. Merlin *et al.* (1982) emplearon 5 loci de proteínas lácteas en razas italianas; mientras que Arranz *et al.* (1996) estudiaron la alfa S1 y kappa caseína, beta lactoglobulina y hormona del crecimiento empleando métodos de genética molecular además de 10 loci bioquímicos sanguíneos en tres razas españolas y Suizo Pardo. Ultimamente Lien *et al.* (1999) estudiaron la alfa S1, beta y kappa caseína así como la beta lactoglobulina en 17 razas bovinas nórdicas.

Con el propósito de evitar la pérdida de razas o líneas de los animales domésticos, la FAO (1996) ha propuesto, ante el desconocimiento de las necesidades de recursos genéticos, un proyecto para identificar las razas o líneas distintas; para lo cual, propone una lista de MS. Así como un protocolo para determinar las distancias genéticas (Barker, 1994).

Se han hecho estudios comparando la secuencia de la región del D-loop de la mitocondria en razas europeas, asiáticas y africanas en donde Ronan *et al.* (1994) estiman la divergencia entre estos grupos genéticos. También se ha utilizado marcadores de ADN polimórficos de amplificación aleatoria (RAPDS) (Gwakisa *et al.*, 1994).

MacHugh *et al.* (1994b) utilizaron 20 MS para estudiar la diversidad genética en 7 razas de bovinos europeos, 3 asiáticas y 6 razas africanas. Ciampolini *et al.* (1995) estudia los polimorfismos de 17 MS en 4 razas italianas. Arranz *et al.* (1996) empleo 5 MS en tres razas españolas, mientras que Rodellar *et al.* (1996), en otras 3 razas españolas utilizó 6 MS. Moazami-Goudarzi *et al.* (1997) estudió las relaciones de 10 razas europeas con 17 MS. Por su parte, Peelman *et al.* (1998) evalúan 4 razas belgas utilizando 23 MS. Y Martín-Burriel *et al.* utilizaron 30 MS en un análisis de 6 razas nativas españolas. Kantanen *et al.* (1998) estudian la variabilidad intra e interpoblacional en 22 razas de bovinos de Europa del norte para lo cual utilizan 11 sistemas de antígenos de eritrocitos; 4 proteínas plasmáticas, 4 proteínas lácteas y 10 MS. Algunos de los MS recomendados por la FAO (1996) fueron usados por uno o todos los estudios anteriores; de ahí que eventualmente se podrá comparar todos las razas bovinas.

Los MS también se han empleado para estudiar la diversidad genética dentro de raza, como los hechos en Holstein del viejo y nuevo mundo (Hanslik *et al.*, 2000). También se han utilizado en Hereford ingleses y canadienses (Blott *et al.*, 1998a)



### **1.6 Hipotesis.**

Existe un gran polimorfismo a nivel molecular, visualizado a través de microsatélites, en poblaciones de bovinos. Esta variabilidad será menor en poblaciones bovinas criollas mexicanas debido a un efecto fundador y a la existencia de un menor tamaño efectivo de la población que en las razas modernas.

Las poblaciones bovinas criollas son genéticamente distantes entre ellas debido a que estas subpoblaciones están aisladas geográficamente y que además se presenta selección, deriva génica y mutación.

Todas las poblaciones de bovino criollo se agrupan en una sola “rama” de un árbol filogenético con relación a razas europeas especializadas (Holstein, Suizo Pardo y Hereford), de origen asiático (Guzerat) o sintéticas (Brahman).

Existe una relación positiva entre la distancia genética y la distancia geográfica en los bovinos criollos mexicanos.

### **1.7. OBJETIVO**

El objetivo general de esta investigación es estimar la diversidad genética dentro y entre poblaciones bovinas criollas y de razas definidas, utilizando microsatélites locus-específicos.

Los objetivos particulares que se plantean son:

- La medición del grado de variabilidad genética dentro de 4 subpoblación de bovinos criollos mexicanos y de 7 poblaciones considerados de raza pura.
- La medición el grado de variabilidad genética entre poblaciones a través de la obtención de las distancias genéticas entre todos los grupos.
- Construir árboles filogenéticos para conocer las relaciones de las poblaciones bovinas locales criollas y de razas definidas utilizando las distancias genéticas obtenidas con microsatélites locus-específico.

## 2. MATERIAL Y METODOS

### 2.1. Muestreo de animales.

Para efectos de este estudio se considerarán como "criollo" a los animales *Bos taurus* que son descendientes del ganado que trajeron los españoles durante la colonia y que en su conformación no manifiestan influencia de *Bos indicus* y de ninguna de las razas *Bos taurus* reconocidas en la actualidad.

**2.1.1. Poblaciones estudiadas.** Se incluyeron 368 animales localizados en la Sierra Tarahumara en Chihuahua (CHIH, n=56), Sierra de Durango (DGO, n=24), Tierra Caliente en Guerrero (GRO, n=48), y del hato del Campo Experimental "El Verdineño" del INIFAP-SAGAR, el cual se formó con animales provenientes de la Sierra de Nayarit (NAY, n=40) (ver figura 2.1.).

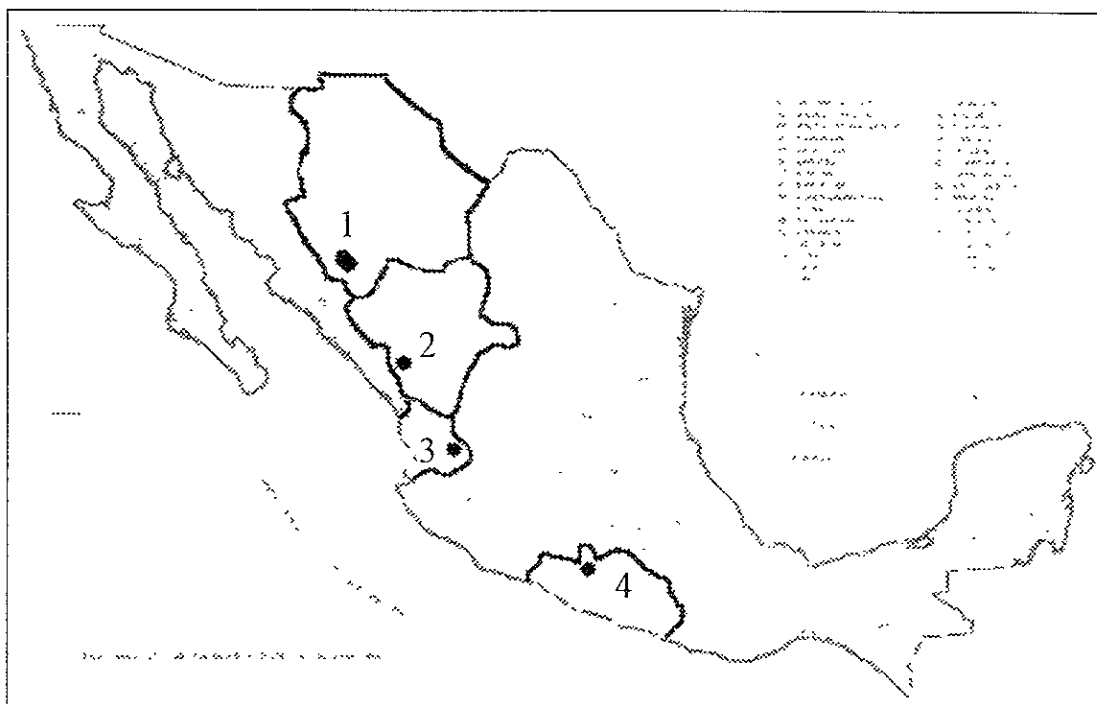


Figura 2.1. Zonas de muestreo de bovinos criollos en los estados de Chihuahua (1), Durango (2), Nayarit (3), y Guerrero(4).

Además, se incluyeron animales de razas de origen ibérico que existen en México: el Criollo Lechero Centroamericano (n=24) provenientes de 3 ganaderías y el Ganado de Lidia (n=24) que provienen de 10 ganaderías. También, se incluyeron animales de las razas modernas: Holstein (HOLS, n=32), Suizo Pardo (SUIZ, n=32), Hereford (HERE, n=24), Guzerat (GUZ, n=32) y Brahman (BRA, n=32). Los animales Hereford provienen de 5 hatos localizados en el estado de Chihuahua; los Guzerat del hato del C.E. El Verdineño: mientras que los Pardo Suizo y Brahman provienen de hatos de las zonas tropicales de los estados de San Luis Potosí, Puebla, Veracruz y Tabasco. El Holstein proviene de establos localizados en el sur del D.F. y los estados de Hidalgo y Puebla

En el caso de los Criollos se procuró incluir el máximo número de hatos con el objeto de evitar tener animales emparentados. En la selección de animales criollos de Nayarit, Guzerat y del Criollo Lechero Centroamericano se utilizaron los registros disponibles para escoger animales que no tuvieran un ancestro común en dos generaciones.

## **2.2. Genotipificación de microsatélites.**

**2.2.1. Purificación de ADN.** El material biológico de cada animal consistió de 5 a 7 ml de sangre obtenida con vacutainer con EDTA. Las muestras fueron transportadas con refrigerantes hasta la Ciudad de México y se mantuvieron congeladas a -20 °C hasta su procesamiento. El ADN se obtuvo por la extracción de las proteínas con Cloruro de Sodio (Bruford *et al.*, 1992).

**2.2.2. Utilización de microsatélites locus específico.** En el cuadro 2.1. se presentan el nombre del marcador y su localización en el genoma (Eggen y Fries, 1995), así como, las secuencias de los iniciadores utilizados y el tamaño del fragmento esperado. Los MS utilizados fueron seleccionados por tener la posibilidad de hacer amplificaciones múltiples en una sola reacción, tener gran polimorfismo y que están incluidos en la lista de 30 marcadores genéticos recomendados en el proyecto MoDaD de la FAO (Bradley, 1997), además han sido utilizados por otros autores (Machugh *et al.*, 1994 ; Ciampòlini *et al.*, 1995). El BOLA-DRBP1 fue añadido debido a que se han reportado varios alelos (Machugh *et al.*, 1994). Otros criterios utilizados fueron, la localización en el genoma y el tamaño del fragmento amplificado.

Cuadro 2.1. Nombre, localización, secuencia y colorante de los iniciadores utilizados, así como el tamaño esperado del microsatélite amplificado

LOCALI- ZACION	NOMBRE DEL MARCADOR	INICIADOR HACIA ADELANTE (FORWARD)	INICIADOR REVERSO (REVERSE)	TAMAÑO ESPERA- DO (pb)*	COLO- RANTE
D01S8	TGLA 57	gcttttaaatcctcagcttgctg	gctlccaaaactttacaatatgtat	70-100	6-FAM
D05S1	ETH 152	tac tcg tag ggc agg ctg cct g	gag acc tca ggg ttg gtg atc ag	180-200	HEX
D09S1	ETH 225	gat cac ctt gcc act att tcc t	aca tga cag cca gct gct act	140-160	6-FAM
D12S4	INRA 54	caa tct gca tga agt ata aat at	ctt cag gca tac cct aca cc	119-123	TET
D16S3	TGLA 53	gctttcagaaatagtttgattca	atcttcacatgatattacagcaga	140-180	HEX
D18S1	TGLA 227	cgaattccaaatctgttaatttgct	acagacagaaactcaatgaaagca	70-100	HEX
D18S5	INRA 63	att tgc aca agc taa atc taa cc	aaa cca cag aaa tgc ttg gaa g	180-200	6-FAM
D21S6	TGLA 122	ccctcctccaggtaaatacagc	aatcacatggcaaataagtacatac	150-190	TET
23	BOLA-DRBP1	atg gtg cag cag caa ggt gag ca	ggg act cag tct ctc tat ctc ttt g	120-140	TET

\* pb es pares de bases

**2.2.3. Marcaje de Iniciadores.** Los iniciadores hacia adelante ("Forward", F) fueron marcados en la posición 5' con fosforamidita: 6-FAM, HEX o TET por el fabricante en el momento de la síntesis de los oligonucleotidos. La detección de los fragmentos se hizo en un secuenciador automático de ADN modelo 310 de ABI PRISM® con el programa GENESCAN 3.0. En el cuadro 2.1 se presenta los colorantes empleados en los MS; la elección del colorante para cada MS se hizo con el objeto de que en una sola determinación se pudieran leer los nueve MS, ya que si bien hay MS con el mismo tamaño, estos se pueden distinguir debido a que tienen diferente colorante, así el 6-FAM se visualiza con el color azul; el TET, verde; y HEX, negro; y en aquellos que están marcados con el mismo colorante, se pueden distinguir dado que tienen diferente tamaño molecular.

**2.2.4. Reacción en Cadena de la Polimerasa.** Las amplificaciones se realizaron en un termociclador Ericom 6000. Con el fin de reducir el número de reacciones de PCR por muestra, se intentó implementar reacciones múltiples; debido a la dificultad de verificar la amplificación en más de dos MS en geles de agarosa al 3%, se optó por amplificar cuando mucho 2 MS. El D1S8 se amplificó a 58 °C; BOLA-DRBP1 y D5S1 se amplificaron juntos a 65 °C; y los demás amplificaron a 54 °C. El volumen de reacción fue de 15 µl y en cada reacción se utilizaron 100 nanogramos de ADN genómico para ser empleado como molde. La concentración final de Cl<sub>2</sub>Mg fue de 2 mM y de 0.6 µM de cada iniciador. Se adicionaron 2.5 U de Taq polimerasa. Para proteger la Taq polimerasa y mejorar su actividad, se adicionaron 1.5 µl de BSA a 3mg/ml y 1.5 µl Triton 2% X100.

El paso inicial de la PCR fue la desnaturalización del ADN a 94 °C durante 3 minutos; se realizaron 30 ciclos con los siguientes pasos: desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos, renaturalización de los iniciadores (annealing) a 54, 58 ó 65 °C (según el microsatélite) durante 30 segundos y un periodo de extensión a 72 °C durante 30 segundos. Por último se programó una etapa a 72 °C durante 2 minutos para completar las extensiones de la polimerasa.

**2.2.5. Preparación de los amplificados.** Los amplificados de PCR fueron mezclados y secados; posteriormente se rehidrataron con 10 µl con agua desionizada estéril. Debido a que con las primeras muestras se observó un gran traslape entre los fragmentos del D12S4

y BOLA-DRBP1, se decidió formar dos grupos para su determinación. De cada tubo se tomó una alícuota de 5 µl y se le agregó 8 µl de formamida desionizada y 0.5 µl del marcador de peso molecular estándar (ADN de plásmido) el cual está marcado con el colorante llamado TAMRA (PE Biosystems) el cual cubre hasta un tamaño de 500 bases. Cabe mencionar que, para evitar errores en el pipeteo del TAMRA-500, se preparaba una solución stock: 400 µl de formamida desionizada y 25 µl del estándar de peso molecular; este volumen era suficiente para preparar las 48 muestras que se pueden analizar en forma continua. Las muestras fueron agitadas con un vortex durante 15 segundos y puestas a 94 °C durante 5 minutos para desnaturalizar los fragmentos y luego colocadas en agua con hielo.

**2.2.6. Condiciones de trabajo de la aplicación GeneScan.** Los parámetros definidos para el trabajo del Genescan en el secuenciador modelo 310 de Perkin-Elmer es el siguiente: se utilizó el polímero POP-4 a una temperatura 60 C; con 10 seg de tiempo de inyección. El voltaje de electroforesis fue de 15 Kv y el amperaje de 10 µA; el filtro empleado fue C. El tiempo total de electroforesis fue 24 minutos por muestra. Para la detección de picos se definió el umbral amplitud de pico 50

**2.2.7. Asignación de los tamaños de los fragmentos.** El estándar de tamaño molecular fue utilizado en cada muestra, llamado TAMRA-500, el cual presenta 16 fragmentos y el método para asignar tamaño a los fragmentos fue el Southern Local (PE Biosystem, 1999). Cuando se presentaban bandas de amplificaciones inespecíficas llamadas también fantasmas (shadows) o "stutters" se siguieron las recomendaciones técnicas (PE Biosystems, 1999).

**2.2.8. Asignación de alelos.** La detección de los tamaños (pb) de los fragmentos amplificados, fue observado directamente en el electroferograma (fig 2.2.), ya que no se contaba con el software específico. Como el repetido corto en tandem es de dos bases Citocina-Adenina, la diferencia entre dos alelos se registro con 2 bases como mínimo.

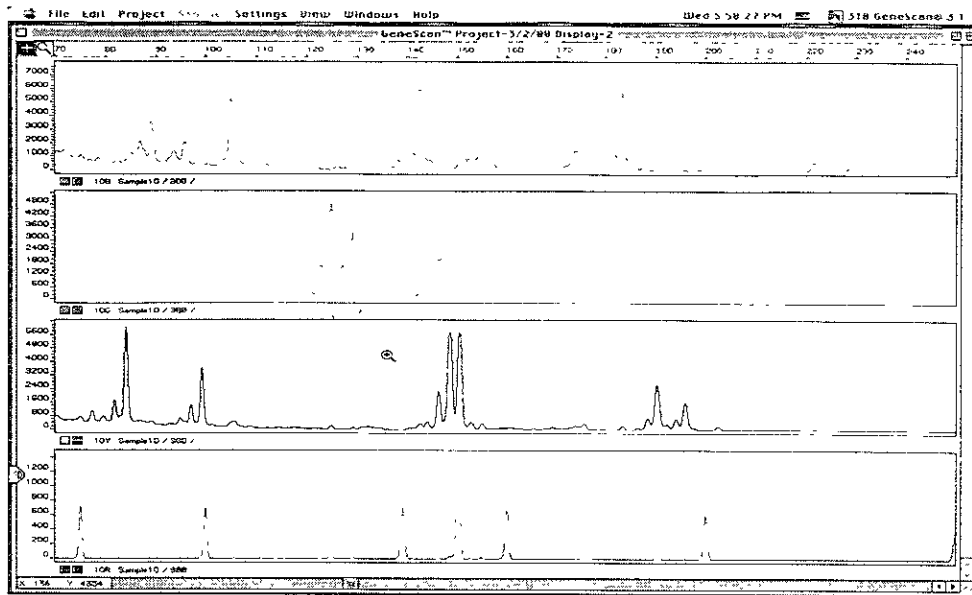


Figura. 2.2. Electroferograma producido por el programa GeneScan 3.0 de ABI PRISM®.

Considerando las posibles variaciones que se presentan entre una corrida a otra, se gráfícó para tratar de distinguir el patrón de tamaños en los alelos. En la mayoría de los MS se observó que las frecuencias más altas coincidían en los números pares. Por lo que se formaron intervalos (binning) de la siguiente manera:

- ✓ El límite inferior es mayor al número impar previo al número par.
- ✓ El límite superior es igual al número impar posterior al número par.

Ejemplo: para un tamaño de 70 bases, el límite inferior es 69.1 y el límite superior es 70.9.

### 2.3. Genotipificación de la Kappa-Caseína.

Se realizó un análisis de polimorfismo de restricción con la finalidad de identificar los alelos A y B de la Kappa-caseína (Denicourt *et al.*, 1990);

Los iniciadores que se utilizaron fueron:

Forward 5' ATAGCCAAATATATCCCAATTTCAGT

Reverso 5' TTTATTAATAGTCCATGAATCTTG





ocurrió la digestión con HinfI, lo que confirma que son homocigotos. En la muestra 6, se observa la digestión (que por alguna razón es parcial) con HindIII indicando con ello que es un homocigoto B, lo que se confirma en el otro carril donde el ADN no se digirió con la enzima HinfI. En las muestras 1,2 y 3, se observan dos bandas en el carril non, debido a que siendo heterocigoto, hay el fragmento sin digerir corresponde al amplificado con el alelo A y el digerido corresponde al B. La misma explicación es para los carriles pares con enzima HinfI.

## 2.4. Estimación de la Diversidad Genética.

**2.4.1. Estimadores de diversidad genética intrapoblacional.** Debido a que en los MS y el gen de la kappa caseína, se distingue el heterocigoto, la estimación de las frecuencias alélicas se hizo por conteo directo utilizando el programa Gene in Populations (May and Krueger;1995).

En cada combinación de loci y subpoblación se obtuvieron las siguientes medidas de variabilidad genética: el número de alelos, alelos específicos Además, se calcularon los estadísticos de diversidad genética de acuerdo a Nei (1987) de la siguiente manera:

Sea  $x_{ijk}$  la frecuencia del i-ésimo alelo del j-ésimo locus en el k-ésimo grupo genético (subpoblación); y  $X_{ijk}$  es la frecuencia observada del homocigoto de i-ésimo alelo del j-ésimo locus en la k-ésima subpoblación. El número de subpoblaciones es  $s$  y el número de loci,  $r$ .

En cada loci y subpoblación, se calculó la heterocigocidades observadas ( $ho_{jk}$ ) y esperada ( $hs_{jk}$ ) de la siguiente manera:

$$\hat{ho}_{jk} = 1 - \sum_{i=1}^{m_{jk}} \hat{X}_{kij} ; y,$$

$$\hat{hs}_{jk} = 2n_{jk} \left( 1 - \sum_{i=1}^{m_{jk}} x_{ijk}^2 \right) / (2n_{jk} - 1);$$

donde  $n_{jk}$  es el número de individuos utilizados en el j-ésimo locus en la k-ésima subpoblación.

El índice de fijación (Fis) que representa la deficiencia o exceso de heterocigotos es:

$$F_{IS_{jk}} = 1 - \hat{h}o_{jk} / \hat{h}s_{jk}$$

Para el calculo de los estadísticos anteriores se utilizó el programa Gene in Populations ( May and Krueger, 1995).

Para probar la hipótesis de que  $F_{IS} = 0$ , lo que implica que el loci está en equilibrio de Hardy-Wienberg, se utilizó una prueba de Ji-cuadrada donde  $\chi^2 = n_{jk}(F_{IS_{jk}})^2$  (Nei, 1987)

Para cada locus se estimaron las heterocigocidades observadas, esperadas y totales ( $h_T$ ) con las siguientes formulas

La heterocigocidad observada ( $h_o_j$ ) es:

$$\hat{h}o_j = 1 - \sum_{i=1}^{m_{jk}} \sum_{k=1}^s \hat{X}_{ijk} / s$$

La heterocigocidad esperada ( $h_s_j$ ) es

$$\hat{h}s_j = \frac{\tilde{n}}{\tilde{n} - 1} \left[ 1 - \sum_{i=1}^{m_j} \left( \frac{\sum_{k=1}^s x_{ik}^2}{s} \right) - \frac{\hat{h}o_j}{2\tilde{n}} \right]$$

y  $\tilde{n}$  es la media armónica del número de individuos en la k-ésima subpoblación; y,

$$\hat{h}_T_j = 1 - \sum_{i=1}^m \left( \frac{\sum_{k=1}^s x_{ik}^2}{s} \right)^2 + \frac{\hat{h}s_j}{\tilde{n}s} - \frac{\hat{h}o_j}{2\tilde{n}s}$$

Con los estadísticos anteriores se obtuvieron los índices de fijación

$$F_{IS_j} = 1 - \hat{h}o_j / \hat{h}s_j ;$$

$$F_{IT_j} = 1 - \hat{h}o_j / \hat{h}_T_j ; \text{ y}$$

$$F_{ST_j} = 1 - \hat{h}s_j / \hat{h}_T_j .$$

Se calcularon el número de alelos observados y Hs promedio (Nei, 1987), como medidas de diversidad genética en cada población de la siguiente manera:

$$\hat{H}s_k = \sum_{j=1}^r h s_{jk} / r$$

La varianza muestral de diversidad genética se obtiene:

$$V(\hat{H}_{s_k}) = \left( \frac{r}{r-1} \right) \left( \sum_{j=1}^r (\hat{h}_{s_{jk}} - \hat{H}_{s_k})^2 \right)$$

**2.4.2. Estructura jerárquica.** Para estudiar la estructura genética se conformaron varios niveles jerárquicos de estructura con los 11 grupos genéticos. En la figura 2.4 se presenta el filograma que resume las hipótesis de que los grupos de criollos mexicanos se agrupan en una sola rama, las razas puras de origen, por otra y los de origen asiático forman otra clade. Se calcularon los índices de fijación en cada nivel. El primer nivel consiste en las dos especies de bovinos el *B. taurus* y el *B. indicus*; en el segundo nivel, *B. taurus* está dividido en dos variedades europeas: los ibéricos y el de las razas puras europeas y el tercer deme esta constituido de animales de origen asiático *B. indicus* (aunque se incluyeron dos variedades de origen asiático, no se hizo la distinción por no incluir más razas de esas variedades). En el tercer nivel los ibéricos se dividen en Lidia, CLC y los Criollos mexicanos (CHIH, DGO, NAY y GRO) y cada raza, europea o asiática, comprende un deme distinto; y por último, en el cuarto nivel, se definen 11 demes.

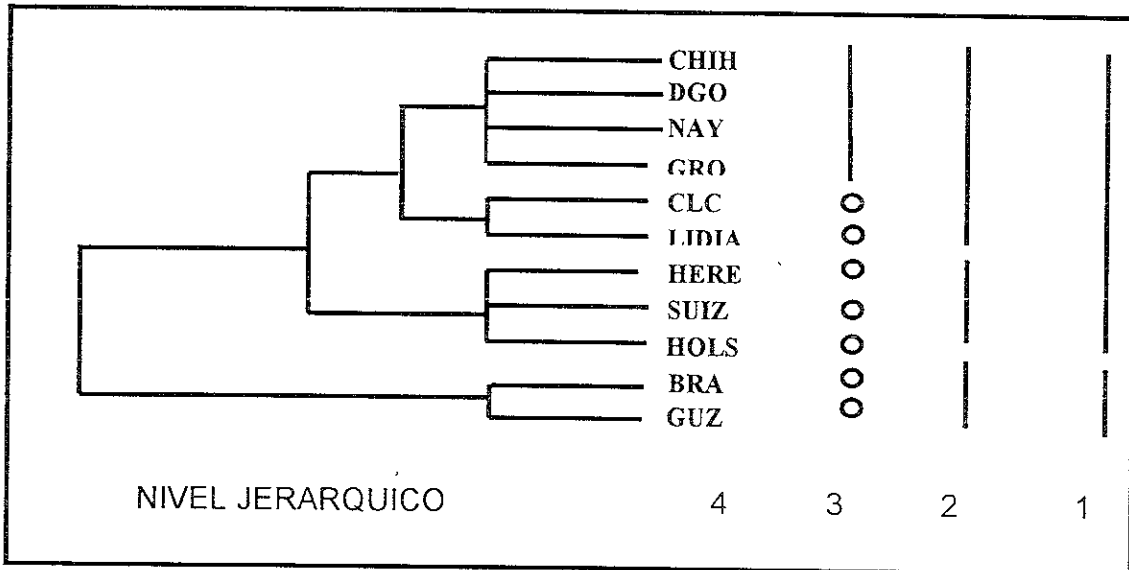


Figura 2.4. Filograma de los 11 grupos genéticos agrupados en forma hipotética. Los círculos y las barras representan demes con diferentes niveles de aglomeración indicados con el número

El cálculo de los índices de fijación no incluyó la información de la kappa caseína por ser considerada un gen sujeto a selección

En cada uno de los niveles se calcularon la heterocigocidades promedio ( $\hat{H}_O$ ,  $\hat{H}_S$  y  $\hat{H}_T$ ) a fin de obtener los índices de fijación ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  y  $F_{ST}$ ) para lo cual se usó el programa Gene in Populations (May and Krueger, 1995).

## 2.5. Distancias genéticas.

Para estudiar la diferenciación específica entre cada una de los grupos genéticos se emplearon varios enfoques uno que tiene significado biológico, una distancia geométrica, una medida de entropía y dos basados en el modelo de mutación por pasos

**2.5.1. Distancia Estandarizada de Nei .** Sea X y Y, las dos subpoblaciones a comparar; sea  $x_{ij}$  y  $y_{ij}$  las frecuencias de la i-ésimo alelo del j-ésimo locus del grupo X y el Y, respectivamente.

Entonces la distancia genética estandarizada de Nei ( $D_S$ ), se calculó de la siguiente manera:

$$D_S = -\log_e(J_{xy}/(J_x J_y)^{1/2})$$

donde  $J_{xy} = \sum_{j=1}^r \sum_{i=1}^{m_j} x_{ij} y_{ij} / r$  ;  $J_x = \left( \sum_{j=1}^r \left( 2n_x \sum_{i=1}^{m_j} x_{ij}^2 - 1 \right) / (2n_x - 1) \right) / r$  ; y  $n_x$  es el número de

individuos considerados en la población X;  $J_Y = \left( \sum_{j=1}^r \left( 2n_y \sum_{i=1}^{m_j} y_{ij}^2 - 1 \right) / (2n_y - 1) \right) / r$  ; y  $n_y$  es

el número de individuos considerados en la población Y.

La distancia  $D_S$  fue calculada con los 9 MS y la Kappa caseína y se obtuvo otra distancia estandarizada con sólo la información de los MS ( $D_{Sm}$ ).

**2.5.2. La Distancia Geométrica  $D_A$ .** Esta distancia es una modificación hecha por Nei *et al.* (1983) a la distancia de la cuerda de Cavalli-Sforza y Edwards (1967), sea  $x_{ij}$  y

$$D_A = \sum_{j=1}^r \left( 1 - \sum_{i=1}^{m_j} \sqrt{x_{ij} y_{ij}} \right) / r$$

También en este caso, se obtuvo una distancia que no incluyó la información de la kappa caseína ( $D_{Am}$ ).

**2.5.3. Desviación de Kullback.** Esta es una medida de entropía, que es la desviación de Kullback ( $D_K$ ). sea  $x_{ij}$  y  $y_{ij}$  las frecuencias de la  $i$ -ésimo alelo del  $j$ -ésimo locus del grupo X y el Y

$$D_K = \sum_{j=1}^r \sum_{i=1}^{m_j} (x_{ij} - y_{ij}) \ln (x_{ij} / y_{ij})$$

donde  $\ln$  es el logaritmo natural.

Debido a la restricción que se da en el cálculo, cuando la frecuencia de alguno de alelos es igual a 0, se sustituyó por el valor de  $1 \times 10^{-12}$ .  $D_K$  fue estimada sólo con la información de los MS.

**2.5.4. Distancias basadas en el modelo de mutación por pasos (MMP).** Bajo el supuesto que los MS siguen un MMP, la diferencia entre dos alelos implica un número de eventos mutacionales, entonces, la diferencia entre los tamaños medios de los alelos entre dos grupos genéticos mide su divergencia; por lo que es razonable utilizar medidas que tradicionalmente se han empleado con variables cuantitativas. Con este enfoque se emplearon las siguientes medidas.

Sea  $\bar{x}_j$  y  $\bar{y}_j$  el promedio del tamaño en pb del  $j$ -ésimo MS de la subpoblación X y Y respectivamente.

La distancia Taxonómica ( $D_T$ ) (Sneath y Sokal, 1980; Nei, 1987) es igual:

$$D_T = \left[ \frac{1}{r} \sum_{j=1}^r (\bar{x}_j - \bar{y}_j)^2 \right]^{\frac{1}{2}}$$

También se obtuvo la distancia propuesta por Golstein *et al.* (1995), la cual es idéntica a la propuesta por Heinke a finales del siglo XIX (Nei, 1987), y consiste en dividir el cuadrado de la distancia euclidiana entre los  $r$  loci estudiados.

También se obtuvo la distancia propuesta por Golstein *et al.* (1995), la cual es idéntica a la propuesta por Heineke a finales del siglo XIX (Nei, 1987), y consiste en dividir el cuadrado de la distancia euclidiana entre los  $r$  loci estudiados.

$$D_G = \frac{1}{r} \sum_{j=1}^r (\bar{x}_j - \bar{y}_j)^2$$

Para  $D_K$  se utilizó Excell (Microsoft® Excell 97); y con el programa estadístico SPSS (SPSS, 1997) se calcularon las distancias euclidianas y con Excell se obtuvieron  $D_T$  y  $D_G$ ; mientras que para  $D_A$ ,  $D_{Am}$ ,  $D_S$  y  $D_{Sm}$  se obtuvieron con el programa DISPAN (Otta, 1993)

## 2.6. Construcción de Dendogramas.

En todos los casos, la construcción del árbol o dendrograma se empleó la metodología de "Neighbor-Joining" debido a que se hace el supuesto de que la tasa mutación de las secuencias varía entre los UTO (Saito y Nei, 1987).

Se construyeron dos arboles con las distancias  $D_S$  y  $D_A$  que incluyen la información de 9 MS y el gen de la kappa caseína. Y con el propósito de comparar los dendrogramas generados con las distancias  $D_{Am}$ ,  $D_{Sm}$ ,  $D_K$ ,  $D_T$  y  $D_G$ , se incluyó sólo la información de los microsatélites.

**2.6.1. Confiabilidad de la topología.** Se generaron 100 replicas con la técnica de muestreo "Bootstrapping". Esta técnica consiste en realizar un muestreo de loci con reemplazo; esto implica que un locus puede aparecer más de una vez y, por lo tanto, uno o más loci no aparecen en una réplica determinada. Se generan, digamos, 100 replicas; es decir, hay 100 matrices de frecuencias alélicas de los loci muestreados. En todos los casos las replicas se generaron con el modulo Seqboot del Phylip (Felsenstein, 1995).

Para cada una de las matrices, se generan una matriz de distancias utilizando la metodología expuesta en en punto 2.5; Con las 100 matrices de distancias, a su vez, se construyen 100 dendrogramas con la metodología del Neighbor-Joining, para lo cual se utilizó el modulo Neighbor del Phylip (Felsenstein, 1995). Se empleó la metodología de la

generaron arboles con raíz, para lo cual se utilizó al Guzerat como grupo externo (outgroup); esto se hizo debido a que es el grupo más alejado de acuerdo a su origen (India) con respecto a la de los demás (Europa).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Diversidad Genética.

**3.1.1. El número de alelos presentes.** Considerando la muestra total (n=368) se encontró que el número de alelos distintos varió de 18 alelos en D18S5 a 33 en D16S3 (ver cuadro 3.1.). En el locus D18S5, el Hereford presenta el menor número de alelos con 5 y el Suizo Pardo presenta el mayor con 10; el promedio para todos los grupos fue de 7.9 alelos. Con respecto al D16S3, el ganado de Lidia y el CLC presentaron 10 alelos y el máximo se observó en CHIH (21) y el promedio para todos los grupos fue de 15.2. El locus con menor número de alelos observado fue el D12S4 en Holstein (4) y el mayor fue para el D21S6 que se presentó en GRO (22).

Cuadro 3.1. Número de alelos distintos en total y por grupo genético en cada uno de los microsatélites.

LOCUS	GRUPO GENETICO											
	GRO	DGO	HERE	CHIH	NAY	BRA	GUZ	SUIZ	CLC	HOLS	LIDIA	TOTAL
D1S8	14	15	11	15	13	12	13	11	11	10	10	26
D9S1	19	15	11	15	15	14	11	14	14	9	13	28
D18S5	9	9	5	9	8	9	6	10	9	6	7	18
D12S4	11	8	10	14	10	8	8	8	12	4	5	19
BOLA-DRP1	13	14	13	15	14	13	14	16	11	14	8	24
D16S3	18	18	11	20	13	21	14	18	10	14	10	33
D18S1	16	12	12	16	16	16	12	17	10	13	11	26
D21S6	22	13	10	16	11	17	15	17	11	15	11	29
D5S1	14	11	9	9	10	10	10	11	10	10	8	21
PROM	15,1	12,8	10,2	14,3	12,2	13,3	11,4	13,6	10,9	10,6	9,2	

Total se refiere al número de alelos distintos encontrados en los 368 animales.

**3.1.2. Loci polimórficos.** Debido a que los microsatélites presentaron un gran número de alelos, las frecuencias fueron cuando mucho de 0.75, por lo que en todos los casos, los loci fueron polimórficos. En 5 MS (D1S8, D18S5, D12S4, BOLA-DRBP1 y D16S6) se observaron alelos con una frecuencia mayor a 0.4. El alelo más frecuente de D12S4 fue el 8, que se presentó en Holstein (0.75), además se presentó en CLC (0.45) y Lidia (0.5)

En la Kappa Caseina, a pesar de tener sólo dos alelos, no se observó ningún grupo genético que fuera monomórfico para este gen. De hecho, el ganado de Lidia fue el menos



polimórfico teniendo el 93.7% de alelo A, mientras que en el CLC y Suizo Pardo la frecuencia del alelo B fue de 0.517.

**3.1.3. Alelos específicos.** En el cuadro 3.2 se presentan el número de alelos específicos por locus y grupo genético. El MS D5S1 presentó sólo 3 alelos específicos en bovinos criollos (GRO, NAY y DGO); mientras que en D1S8 y D18S5, se presentaron 7 alelos.

Cuadro 3.2. Número de alelos específicos para cada grupo genético en cada uno de los microsátélites.

GRUPO GENETICO	MICROSATÉLITE									
	D1S8	D9S1	D18S5	D12S4	BOLA -DRP1	D16S3	D18S1	D21S6	D5S1	G.*
GRO	1		2			1	1	3	1	9
NAY	5		1		1				1	8
DGO	1	1	1	1		2			1	7
CHIH		1		1			1			3
LIDIA		1								1
CLC		1		2				1		4
HERE							1			1
HOLS										0
SUIZ			1	1	1	1				4
GUZ					1					1
BRA			2		1	1	2			6
TOTAL	7	4	7	5	4	5	5	4	3	44

\* G. es el total para grupo

El 71 % de los alelos específicos presentaron en los grupos de origen ibérico, en donde los criollos presentaron la mayor parte, con el 61% del total de 44 alelos, que se observaron en los 11 grupos genéticos. En el Holstein no se observó ningún alelo específico, mientras que en el ganado de Lidia, Hereford y Guzerat sólo tuvieron 1 alelo. En los grupos de criollos se presentaron un mayor número de alelos específicos; el máximo lo tuvo GRO con 9 alelos y el mínimo CHIH con 3. Tanto el CLC como el Suizo presentaron 4 alelos y el Brahman, 6.

La mayoría de los alelos específicos tienen frecuencias muy bajas, menores a 0.05; sólo 5 alelos tuvieron frecuencias por arriba de ese valor (ver cuadros A.1 a A.9). En el locus D1S8 el alelo Q tuvo una frecuencia de 0.089 en NAY; en el D12S4, el alelo J tuvo

0.06 en Suizo. En Brahman se presentaron el alelo L del BoLA-DRP1 (0.12) y el alelo 7 del D16S3 (0.05) y en este mismo locus, pero en DGO se observó el alelo Y (0.06).

Por otro lado, hay un grupo de 15 alelos poco frecuentes que se presentan en dos a cuatro grupos genéticos (Cuadro 3.3). De los cuales destacan: en el locus D1S8, los alelos M y N ambos con frecuencias de 0.059 en el CLC, los cuales se presentan también en GRO y CHIH, respectivamente. En el mismo grupo genético pero en el locus D9S1, el alelo 2 tiene una frecuencia de 0.068 y se presenta también en NAY y el alelo 3, con una frecuencia de 0.182 y se observa en GRO y Brahman. El alelo E del D12S4 se presenta en Guzerat con el 0.22, y en Brahman y GRO. Otro alelo que llama la atención es el 2 del BoLADRP1, que se presenta con 0.08 en DGO, y con menor frecuencia se observa en NAY, CHIH y Hereford. D16S3 presenta 2 alelos en 3 grupos y D18S1 un alelo en NAY y CHIH; mientras que el D21S6 y D5S1 no hubo alelos con este tipo de regularidades. Cabe mencionar que en general, 10 alelos se presentan sólo en grupos de origen ibérico.

Cuadro 3.3. Alelos poco frecuentes que tienen cierta especificidad.

GRUPO GENETICO	D1S8	D9S1	D18S5	D12S4	BOLA -DRP1	D16S3	D18S1	D21S6	D5S1
GRO	M	1,3,4,5,T		E	1,2				
NAY	8	2,Q,S,T,	4		2	W,X	P		
DGO	8	Q,T	4		1,2	X			
CHIH	N					W,X	P		
LIDIA		4							
CLC	M,N	2,3,5							
HERE					2				
HOLS									
SUIZ		S	4						
GUZ		1		E					
BRA		1,3		E					

Los alelos en negritas tienen frecuencia mayor a 0.05

**3.1.4. Heterocigocidad.** La Heterocigocidad observada ( $H_o$ ) en la muestra total (368 animales) varió de 0.23 para el locus D12S4 a 0.56 en el locus D9S1 y en la Kappa Caseina fue de 0.37. el promedio para los 10 loci fue de 0.43 (Cuadro 3.4).

El valor de diversidad genética ( $H_s$ ) fue obtenido en cada loci (cuadro 3.4); el valor más bajo de diversidad génica fue para la Kappa Caseina (0.33), lo cual es menor a lo observado ( $H_o$ ), indicando con ello un exceso de heterocigotos que repercute, también, en el equilibrio de Hardy-Wienberg. El locus D18S5 fue el microsatélite con menor valor de  $H_s$  (0.69) y el mayor fue para BoLA-DRP1 con 0.87; por su parte los loci D9S1, D18S1 y D21S6 tienen valores superiores a 0.86.

En el cuadro 3.5 se presentan por subpoblación, el valor de diversidad genética y su error estándar. Los valores más bajos de diversidad genética fueron para Lidia (0.71) y Holstein (0.72) y el más alto fue para el Suizo Pardo (0.85). Entre los criollos, los de Nayarit tuvieron el valor más bajo (0.76) y Durango el más alto (0.85).

## **3.2. Índices de fijación.**

**3.2.1. Análisis por loci y grupo genético.** El Índice de Fijación, por microsatélite varió de 0.356 en D9S1 a 0.682 en el D12S4; mientras que para la kappa caseina presenta un valor negativo (Cuadro 3.4). Para probar que el índice  $F_{IS} \neq 0$  para cada uno de las combinaciones de microsatélites y grupo genético se efectuó una prueba de Ji-cuadrada ( $\chi^2 = N F_{IS}^2$ ) (Nei, 1987) (cuadro 3.6). Se encontró que el 69 % de los valores de  $F_{IS}$  en los loci fueron diferentes de cero ( $P < 0.05$ ). En D9S1 hubo 5 grupos genéticos que no se encontraron diferencias significativas; mientras que en el D12S4 en todos los grupos el exceso de homocigosis fue significativo ( $P < 0.05$ ).

Cuadro 3.4. Heterocigocidad observada ( $H_O$ ), esperada( $H_S$ ) y total ( $H_T$ ) e índices de fijación subpoblacional ( $F_{IS}$ ), total ( $F_{IT}$ ), grado de diferenciación genética ( $F_{ST}$ ) y magnitud relativa de diferenciación génica entre subpoblaciones ( $G_{ST}$ ) para los 9 microsatélites y el gen de la Kappa Caseína.

LOCUS	HETEROCIGOCIDADES			INDICES DE FIJACIÓN			$G_{ST}$
	$H_T$	$H_S$	$H_O$	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$	
DIS8	0.909	0.840	0.500	0.404	0.450	0.076	0.076
D9S1	0.921	0.866	0.558	0.356	0.394	0.059	0.060
D18S5	0.793	0.694	0.414	0.403	0.478	0.125	0.125
D12S4	0.796	0.739	0.235	0.682	0.704	0.071	0.071
BOLA-DRBP1	0.929	0.868	0.454	0.477	0.511	0.065	0.065
D16S3	0.933	0.852	0.477	0.440	0.489	0.087	0.087
D18S1	0.930	0.865	0.512	0.408	0.449	0.069	0.069
D21S6	0.929	0.861	0.381	0.557	0.590	0.074	0.074
D5S1	0.900	0.821	0.411	0.500	0.544	0.087	0.087
Kappa Caseína	0.383	0.329	0.371	-0.129	0.031	0.142	0.142

Cuadro 3.5. Diversidad Genética y error estándar en los 11 grupos.

GRUPO GENETICO	DIVERSIDAD GENETICA	ERROR ESTÁNDAR.
GRO	0.808	0.055
DGO	0.850	0.046
CHIH	0.832	0.042
NAY	0.758	0.052
LIDIA	0.712	0.075
CLC	0.812	0.038
HERE	0.769	0.059
SUIZ	0.853	0.040
HOLS	0.718	0.073
BRA	0.804	0.076
GUZ	0.744	0.074

Cuadro 3.6. Heterocigocidad observada (Ho), esperada (Hs) y Fis para cada loci por grupo genético.

	GRUPO GENETICO										
	GRO	DGO	HERE	CHIH	NAY	BRA	GUZ	SUIZ	CLC	HOLS	LIDIA
<b>DIS8</b>											
Ho	0.33	0.75	0.61	0.47	0.50	0.71	0.50	0.32	0.35	0.53	0.42
Hs	0.87	0.92	0.85	0.87	0.72	0.87	0.87	0.88	0.84	0.73	0.84
Fis	0.62	0.18	0.29	0.46	0.30	0.18	0.42	0.63	0.58	0.27	0.50
N	45	24	23	36	28	28	30	25	17	30	24
$\chi^2$	<b>17.08</b>	0.78	1.91	<b>7.62</b>	2.55	0.86	<b>5.34</b>	<b>10.05</b>	<b>5.72</b>	2.12	<b>6.05</b>
<b>D9S1</b>											
Ho	0.54	0.75	0.75	0.59	0.67	0.52	0.53	0.50	0.41	0.53	0.35
Hs	0.87	0.91	0.80	0.91	0.88	0.86	0.79	0.90	0.91	0.81	0.89
Fis	0.38	0.17	0.07	0.35	0.24	0.40	0.33	0.45	0.55	0.34	0.61
N	48	24	24	49	39	31	32	32	22	30	23
$\chi^2$	<b>6.93</b>	0.72	0.10	<b>5.93</b>	2.21	<b>4.91</b>	3.48	<b>6.39</b>	<b>6.61</b>	3.47	<b>8.59</b>
<b>D18S5</b>											
Ho	0.49	0.50	0.38	0.38	0.47	0.36	0.39	0.33	0.48	0.50	0.29
Hs	0.76	0.77	0.58	0.74	0.50	0.81	0.58	0.83	0.73	0.61	0.73
Fis	0.36	0.35	0.36	0.48	0.05	0.56	0.33	0.60	0.35	0.18	0.61
N	47	24	24	50	38	31	31	30	21	28	21
$\chi^2$	<b>6.02</b>	2.96	3.08	<b>11.71</b>	0.08	<b>9.79</b>	3.40	<b>10.73</b>	2.54	0.89	<b>7.74</b>
<b>D12S4</b>											
Ho	0.23	0.29	0.30	0.47	0.43	0.23	0.17	0.13	0.26	0	0.08
Hs	0.76	0.82	0.83	0.86	0.72	0.77	0.75	0.79	0.75	0.41	0.66
Fis	0.69	0.64	0.63	0.46	0.41	0.71	0.78	0.84	0.65	1	0.87
N	43	24	23	32	35	31	30	32	23	32	24
$\chi^2$	<b>20.71</b>	<b>9.92</b>	<b>9.19</b>	<b>6.68</b>	<b>5.80</b>	<b>15.50</b>	<b>18.21</b>	<b>22.74</b>	<b>9.78</b>	<b>32.00</b>	<b>18.29</b>
<b>BOLA-DRBPI</b>											
Ho	0.40	0.63	0.83	0.65	0.74	0.27	0.28	0.25	0.46	0.45	0.04
Hs	0.91	0.90	0.89	0.89	0.88	0.90	0.89	0.92	0.87	0.86	0.65
Fis	0.55	0.31	0.07	0.27	0.15	0.70	0.69	0.73	0.48	0.47	0.93
N	47	24	23	37	35	26	29	32	24	31	23
$\chi^2$	<b>14.43</b>	2.25	0.12	2.68	0.83	<b>12.78</b>	<b>13.81</b>	<b>16.96</b>	<b>5.42</b>	<b>6.96</b>	<b>20.02</b>

n es el número de individuos evaluados

$\chi^2$  es el valor de Ji-cuadrada = n(Fis)<sup>2</sup>. Los valores en negritas indican Fis  $\neq$  0 (P<0.05).

Continuación.

Cuadro 3.6. Heterocigocidad observada (ho), esperada (hs) y estadístico  $F_{IS}$  para cada loci por grupo genético

	GRO	DGO	HERE	CHIH	NAY	BRAH	GUZ	SUIZ	CLC	HOLS	LIDIA
<b>D16S3</b>											
Ho	0.47	0.42	0.46	0.36	0.35	0.45	0.28	0.53	0.57	0.81	0.54
Hs	0.88	0.92	0.82	0.92	0.82	0.94	0.89	0.90	0.84	0.89	0.56
Fis	0.47	0.55	0.44	0.61	0.57	0.52	0.69	0.41	0.32	0.09	0.04
N	47	24	24	50	34	31	32	32	21	32	24
$\chi^2$	<b>10.25</b>	<b>7.23</b>	<b>4.69</b>	<b>18.42</b>	<b>11.01</b>	<b>8.32</b>	<b>15.02</b>	<b>5.30</b>	2.14	0.24	0.03
<b>D18S1</b>											
Ho	0.61	0.55	0.57	0.35	0.58	0.50	0.41	0.48	0.50	0.50	0.58
Hs	0.84	0.88	0.87	0.88	0.90	0.87	0.84	0.92	0.84	0.84	0.84
Fis	0.27	0.38	0.35	0.60	0.36	0.42	0.51	0.48	0.40	0.40	0.31
N	44	22	21	46	38	26	29	23	22	32	24
$\chi^2$	3.18	3.21	2.50	<b>16.73</b>	<b>4.92</b>	<b>4.63</b>	<b>7.51</b>	<b>5.23</b>	<b>3.56</b>	<b>5.22</b>	2.29
<b>D21S6</b>											
Ho	0.51	0.42	0.32	0.38	0.32	0.27	0.33	0.34	0.16	0.53	0.61
Hs	0.91	0.88	0.76	0.88	0.84	0.92	0.86	0.89	0.81	0.90	0.83
Fis	0.44	0.53	0.58	0.57	0.61	0.71	0.61	0.61	0.81	0.41	0.27
N	45	24	22	48	37	26	27	32	19	32	23
$\chi^2$	<b>8.71</b>	<b>6.69</b>	<b>7.40</b>	<b>15.76</b>	<b>13.86</b>	<b>12.96</b>	<b>10.08</b>	<b>11.99</b>	<b>12.34</b>	<b>5.35</b>	1.63
<b>D5S1</b>											
Ho	0.50	0.48	0.75	0.62	0.62	0.16	0.25	0.33	0.13	0.47	0.22
Hs	0.86	0.86	0.81	0.80	0.79	0.84	0.70	0.87	0.85	0.80	0.85
Fis	0.42	0.45	0.08	0.22	0.23	0.81	0.64	0.62	0.85	0.42	0.75
N	46	23	24	50	39	31	24	30	24	30	23
$\chi^2$	<b>8.00</b>	<b>4.58</b>	0.14	2.42	1.97	<b>20.29</b>	<b>9.83</b>	<b>11.42</b>	<b>17.42</b>	<b>5.24</b>	<b>12.77</b>
<b>Ho Promedio</b>	0.46	0.53	0.55	0.47	0.52	0.39	0.35	0.36	0.37	0.48	0.35
<b>Kappa Caseina</b>											
Ho	0.33	0.57	0.27	0.64	0.47	0.14	0.16	0.57	0.57	0.25	0.13
Hs	0.34	0.46	0.30	0.48	0.43	0.13	0.14	0.50	0.50	0.22	0.12
Fis	0.03	-0.25	0.08	-0.32	-0.10	-0.08	-0.09	-0.14	-0.14	-0.14	-0.07
n	40	30	22	44	38	28	32	30	30	44	32
$\chi^2$	0.03	1.80	0.15	<b>4.39</b>	0.35	0.17	0.23	0.55	0.55	0.90	0.14

n es el número de individuos evaluados

$\chi^2$  es el valor de Ji-cuadrada =  $n(F_{IS})^2$ . Los valores en negritas indican  $F_{IS} \neq 0$  ( $P < 0.05$ ).

Al analizarlo por grupo genético, se encontró en los criollos mexicanos que GRO presentó sólo un MS con  $F_{IS}$  no diferente a 0; CHIH, 2; y DGO y NAY, 5. En cuanto al CLC y Lidia tuvieron 7 y 6 MS, respectivamente, con una  $F_{IS}$  mayor que cero. Mientras que para las razas puras el  $F_{IS}$  fue significativo en 3 MS en Hereford, 5 en Holstein, 7 en Guzerat, 8 en Brahman, mientras que en el Pardo Suizo, todos los MS la  $F_{IS}$  fue significativa ( $P < 0.05$ ).

En la Kappa Caseína, el valor de  $F_{IS}$  fue negativo debido a que la  $H_o$  es mayor a la  $H_s$ , es decir, que en este locus se presenta a diferencia de los microsatélites un exceso de heterocigotos que en el equilibrio de Hardy Weinberg. Al analizarlo por grupo genético, sólo los criollos de GRO y los Hereford tuvieron un valor positivo de  $F_{IS}$  (cuadro 3.6); sin embargo, sólo el índice de Chihuahua fue significativo ( $P < 0.05$ ).

Los valores calculados de  $F_{ST}$  (programa Gene) y los de  $G_{ST}$  (Dispan) son iguales por microsatélite. El valor más bajo correspondió al D9S1 con 0.059 y el D18S5 se estimó como el más grande 0.125; es de notar que el gene de la kappa caseina mostró el valor más grande con 0.142

**3.2.2. Estructura jerárquica.** El análisis intra e interpoblacional con los estadísticos  $F$  se realizó en cuatro niveles (cuadro 3.7). En el nivel 1: subespecies *versus* total, el déficit de heterocigotos promedio fue de 52.8% ( $F_{IS}=0.528$ ) para cada subespecie. Pero la deficiencia de heterocigotos fue de 53.9% al considerar a los 368 animales como integrantes de una sola población. La diferenciación genética promedio entre las dos subpoblaciones es de 2.5% ( $F_{ST}=0.025$ ). En las variedades (nivel 2), la deficiencia de heterocigotos fue de 50.9% en promedio para cada deme; mientras que para la población total fue de 52.2%. La diferenciación genética promedio fue de 2.7%. En el nivel tres, en donde se considera a los grupos criollos mexicanos como un deme, la deficiencia de



donde cada grupo de criollo mexicano y raza pura son consideradas como demes (11 subpoblaciones), la deficiencia de heterocigotos promedio en cada subpoblación fue de 46.8 %, mientras que el total fue de 51%. El promedio de la diferenciación genética entre las subpoblaciones fue de 7.9%.

La magnitud relativa de diferenciación génica ( $G_{ST}$ ) entre las 11 subpoblaciones, para lo cual se incluyó tanto la información de los 9 MS y el gen de la kappa caseína, fue de 0.0815.

Por otro lado, se definió como población total sólo a los grupos criollos de México (DGO, GRO, CHIH y NAY), y se encontró un exceso de homocigotos de 41 % y el grado de diferenciación genética fue de  $F_{ST} = 0.049$ . Y cuando la población total fue definida como los grupos de origen ibérico, la deficiencia de heterocigotos fue de 45% y la diferenciación genética promedio fue de 6.9%.

Cuadro 3.7 Índices de fijación calculados en diferentes niveles de aglomeración de demes

NIVEL	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$
1	0.528	0.539	0.025
2	0.509	0.522	0.027
3	0.494	0.533	0.077
4	0.468	0.510	0.079

1.- Demes: europeo y asiático. 2.- Demes: europeo, ibérico y asiático. 3.- demes: criollo mexicano, Lidia, CLC, HERE, SUIZ, HOLS, GUZ y BRA. 4 - demes: GRO, DGO, CHIH NAY, Lidia, CLC, HERE, SUIZ, HOLS, GUZ y BRA

### 3.3. Distancias genéticas.

**3.3.1. Distancia Genética Estandarizada de Nei.** En el cuadro 3.8 se presentan la  $D_s$  con sus errores estándar con los 10 loci. La distancia  $D_s$  más corta se observa entre los criollos de DGO y CHIH (0.049) mientras que el criollo de NAY se observa más alejado de Guzerat (0.739). De hecho, el Guzerat se encuentra más alejado de todos los grupos, la media geométrica de  $D_s$  fue de 0.419, mientras que en el criollo Lechero Centroamericano

Cuadro 3.8 Distancia estandarizada de Nei (Ds) y su error estándar utilizando 9 microsatélites y el gen de la Kappa Caseína en grupos criollos y razas puras.

GRUPO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 -GRO		0.117	0.161	0.122	0.154	0.028	0.079	0.044	0.084	0.116	0.115
2 -DGO	0.240		0.067	0.032	0.087	0.090	0.185	0.073	0.130	0.065	0.119
3 -HERE	0.294	0.163		0.086	0.189	0.143	0.206	0.122	0.163	0.147	0.208
4.-CHIH	0.307	0.049	0.242		0.124	0.108	0.185	0.082	0.179	0.069	0.133
5.-NAY	0.339	0.200	0.473	0.285		0.166	0.319	0.106	0.153	0.128	0.145
6.-BRA	0.061	0.241	0.278	0.349	0.415		0.065	0.049	0.082	0.138	0.173
7.-GUZ	0.173	0.457	0.385	0.521	0.739	0.135		0.092	0.177	0.278	0.296
8 -SUIZ	0.191	0.172	0.402	0.162	0.302	0.316	0.483		0.121	0.041	0.061
9.-CLC	0.324	0.312	0.528	0.389	0.489	0.438	0.656	0.257		0.104	0.139
10 -HOLS	0.238	0.194	0.329	0.242	0.355	0.293	0.570	0.242	0.339		0.068
11.-LIDIA	0.268	0.271	0.433	0.376	0.408	0.330	0.586	0.357	0.440	0.155	

Los valores por debajo de la diagonal corresponden a la Distancia Genética Estandarizada y los valores por arriba de la diagonal son los errores estándar calculados con el programa DISPAN (Genetic Distance and Phylogenetic Analysis)

fue de 0.403 y en NAY fue de 0.378. Por otro lado, DGO fue el que estuvo más cerca de todos con un valor de 0.203. GRO se agrupó aparte de los demás criollos con una distancia  $D_s$  que varió de 0.25 a 0.29.

Si ordenamos los grupos por su latitud de Norte a Sur (CHIH  $\Rightarrow$  DGO  $\Rightarrow$  NAY  $\Rightarrow$  GRO) se observa que la distancia genética se incrementa con la distancia geográfica. CHIH-DGO ( $D_s=0.05$ ) CHIH-NAY ( $D_s=0.28$ ) CHIH-GRO ( $D_s=0.31$ ). Esto apoya el proceso de aislamiento por distancia. Sin embargo, al orientarlo de Sur a Norte, NAY aparece más alejado de GRO ( $D_s=0.33$ ) y DGO es el más cercano ( $D_s=0.24$ ).

**3.3.2. Distancia Geométrica  $D_A$ .** Los valores de la distancia  $D_A$  se presentan en el cuadro 3.9. Aquí la distancia más corta se vuelve a observar entre DGO y CHIH (0.17) pero la más grande se presenta entre el Guzerat y Lidia (0.47) mientras que entre Guzerat y NAY fue de 0.45, el Guzerat se presenta también como el grupo más alejado de los demás. El mismo patrón de relación se observa con la distancia  $D_A$  y la distancia geográfica, pero al ordenarlo de sur a norte, CHIH aparece más cercano a GRO ( $D_A=0.257$ ) y GRO-DGO es el más alejado ( $D_A=0.293$ ).

**3.3.3. Distancia basada en la Teoría Informacional.** Se calculó la desviación de Kullback utilizando sólo la información de los MS, la cual se presenta en el cuadro 3.10. Con los 9 microsatélites se obtuvo un total de 224 alelos; de modo que para estandarizar la desviación fue dividida entre 215 (Kazarinova y Hummel, 1991). Se vuelve a presentar como la distancia más corta entre CHIH y DGO (0.13) y la más grande entre Guzerat y Lidia (0.41); también se observa la relación entre la desviación de Kullback y la distancia geográfica en los grupos criollos mexicanos.

**3.3.4. Distancia basada en el Modelo de Mutación por Pasos.** Se construyó una matriz de los promedios aritméticos de los tamaños de los microsatélites en cada grupo (Cuadro A.11 a A19). Para la  $D_T$ , se obtuvieron las distancias euclidianas cuadradas  $(D_E)^2$ , posteriormente se dividió entre el número de loci ( $r=9$ ) y se obtuvo la raíz cuadrada. En cambio, para la distancia  $D_G$  es equivalente a  $(D_E)^2/9$ . En el cuadro 3.11 se presentan las dos distancias. La  $D_T$  más pequeña se presentó entre CHIH y HOLS (2.02) y el más grande fue entre GUZ y HERE (10.97). Con esta distancia se observa la relación positiva con la

Cuadro 3.9. Distancia  $D_A$  utilizando 9 microsatélites y el gen de la Kappa Caseina en grupos criollos y razas puras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.-GRO										
2.-DGO	0.293									
3.-HERE	0.314	0.218								
4.-CHIH	0.257	0.168	0.210							
5.-NAY	0.274	0.247	0.338	0.243						
6.-BRA	0.180	0.277	0.326	0.294	0.338					
7.-GUZ	0.248	0.380	0.392	0.344	0.452	0.231				
8.-SUIZ	0.221	0.281	0.339	0.216	0.291	0.298	0.340			
9.-CLC	0.253	0.359	0.425	0.371	0.372	0.333	0.425	0.314		
10.-HOLS	0.247	0.254	0.253	0.240	0.271	0.311	0.422	0.245	0.331	
11.-LIDIA	0.286	0.292	0.349	0.296	0.325	0.343	0.470	0.311	0.349	0.195

Cuadro. 3.10. Desviación de Kullback calculada a partir de frecuencias alélicas de 9 microsatélites.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1.-GRO	0.000	46,376	49,512	38,268	42,998	31,869	41,865	38,701	42,556	45,721	53,203
2.-DGO	0.216	0.000	32,919	28,263	40.568	46,293	65,571	50.323	68,261	46,387	53,994
3.-HERE	0.230	0.153	0.000	32,676	55,382	56,983	70.653	58,410	78,908	43,063	65,259
4.-CHIH	0.178	0.131	0.152	0.000	38,240	47,253	55,059	37,251	69,378	40.954	52,369
5.-NAY	0.200	0.189	0.258	0.178	0.000	55,576	73,772	50.242	65,876	48,026	58,488
6.-BRA	0.148	0.215	0.265	0.220	0.258	0.000	42,343	52,388	58,178	57,417	67,270
7.-GUZ	0.195	0.305	0.329	0.256	0.343	0.197	0.000	57,073	74,502	76,417	87,752
8.-SUIZ	0.180	0.234	0.272	0.173	0.234	0.244	0.265	0.000	58,641	43,353	56,411
9.-CLC	0.198	0.317	0.367	0.323	0.306	0.271	0.347	0.273	0.000	59,934	64,663
10.-HOLS	0.213	0.216	0.200	-0.190	0.223	0.267	0.355	0.202	0.279	0.000	37,684
11.-LIDIA	0.247	0.251	0.304	0.244	0.272	0.313	0.408	0.262	0.301	0.175	0.000

Los valores por arriba del diagonal son desviaciones sin estandarizar.

Los valores por debajo del diagonal son desviaciones estandarizadas por el número de alelos

Cuadro 3.11 Distancia de Golstein (arriba del diagonal) y Distancia Taxonómica (debajo del diagonal) utilizando 9 microsatélites.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 -GRO	0,00	40,97	50,17	41,34	12,01	43,64	117,32	30,22	7,00	26,56	18,65
2.-DGO	6,46	0,00	11,35	11,22	13,26	61,62	124,97	26,49	54,93	14,55	43,56
3 -HERE	7,28	2,78	0,00	26,32	20,08	97,82	189,38	48,80	68,67	22,94	49,33
4.-CHIH	6,21	3,94	4,41	0,00	16,05	44,17	95,74	10,91	64,83	4,90	28,49
5.-NAY	4,08	4,44	5,02	4,07	0,00	56,73	130,75	22,50	28,48	12,84	20,88
6 -BRA	4,67	7,49	8,85	7,00	6,73	0,00	21,34	26,66	49,08	36,04	50,86
7 -GUZ	7,01	9,40	10,97	8,30	8,97	3,58	0,00	73,29	122,26	97,70	124,27
8.-SUIZ	5,04	5,82	6,69	3,70	5,31	4,96	6,04	0,00	41,68	6,60	11,92
9 -CLC	4,29	8,90	9,35	8,69	5,84	6,63	8,73	7,41	0,00	43,64	29,56
10 -HOLS	5,20	4,03	4,48	2,02	3,32	6,00	7,97	3,32	7,48	0,00	13,70
11 -LIDIA	5,50	6,42	7,27	5,69	4,92	6,44	8,96	5,60	7,96	4,37	0,00

distancia geográfica cuando se ordena de norte a sur, pero al ordenarlo a la inversa, DGO aparece más distante de GRO. Con la  $D_G$ , la distancia mínima y máxima se presentan en los mismos grupos que en  $D_T$ . La relación positiva entre  $D_G$  y distancia geográfica se mantiene en las dos orientaciones

### 3.4. Analisis filogenético.

En la figura 3.1., se presenta un árbol filogenético consenso con raíz empleando la distancia  $D_A$ , donde el Guzerat fue considerado como grupo externo. Las topologías más robustas fueron Guzerat-Brahman y Holstein-Lidia, ambos con un valor de 98%. La topología del árbol muestra, como se esperaba, que el Guzerat y el Brahman se agrupan juntos en una rama (clade); los criollos mexicanos (DGO, CHIH y NAY) se agrupan juntos (54% de confiabilidad); y por otro lado están Holstein-Lidia, mientras que Pardo Suizo y CLC no es claro su agrupamiento. Otro hallazgo inesperado es que el Hereford se agrupa junto con DGO ( $D_S=0.218$ )

En la figura 3.2. se presenta el árbol consenso obtenido con  $D_S$ , en donde se observa que la relación GRO-BRA-GUZ es la misma que con  $D_A$  pero apareciendo las distancias del nodo a GRO y a BRA igual a cero. Los criollos NAY, DGO y CHIH están juntos, mientras que SUIZ-CLC y HOLS-Lidia forman clades distintas

El hecho que GRO se agrupa junto con el Brahman con la distancia genética estandarizada de Nei  $D_{S1,6} = 0.06$ , y con Guzerat fue  $D_{S1,7} = 0.17$  apoya la hipótesis que el ganado de Tierra Caliente, Gro., tiene influencia de Cebú.

**3.4.1. Comparación de dendrogramas obtenidos con distintas distancias** Las distancias  $D_{Am}$ ,  $D_{Sm}$ ,  $D_K$ ,  $D_T$  y  $D_G$  se calcularon sin incluir el kappa caseína. debido a que este gen pudiera haber sido seleccionado directa o indirectamente en las razas lecheras. Para el caso de  $D_{Am}$ ,  $D_{Sm}$  se obtuvieron 1000 replicas tipo bootstrap; mientras que para las demás, se obtuvieron 100 replicas. La topología de los árboles obtenidos se comparó con la obtenida con  $D_A$ . Se observó que la topología del árbol no varió, cuando se usó  $D_{Am}$  al no incluir el gen de la kappa caseína (figura 3.1. y 3.3). Con el  $D_{Sm}$  la topología varió; aquí se

conservó la relación de Holstein-Lidia y GRO-BRA-GUZ. Pero parecería que la relación se modificó por una especie de inversión entre CLC-SUIZ con CHIH-DGO-HERE. El árbol obtenido con  $D_K$  tiene la misma topología que  $D_A$ , pero con  $D_K$  se obtuvieron valores más altos de confiabilidad en 4 nodos, uno igual y 3 más bajos (figura 3.5) que el obtenido con  $D_A$  (Figura 3.1). Con las distancias geométricas  $D_G$  y  $D_T$ , entre ellas se observa una misma topología (figura 3.6 y 3.7), la cual es muy distinta a la de  $D_A$  (figura 3.1), la clade Brahman-Guzerat se conserva con una confiabilidad de 81% en el caso de  $D_G$  y de 92% con  $D_T$ , también la relación CHIH-DGO-HERE se conserva pero con valores de confiabilidad menores. La diferencia consiste en que GRO-CLC constituyen una clade distinta y HOLS, Lidia y NAY están entremezclados.



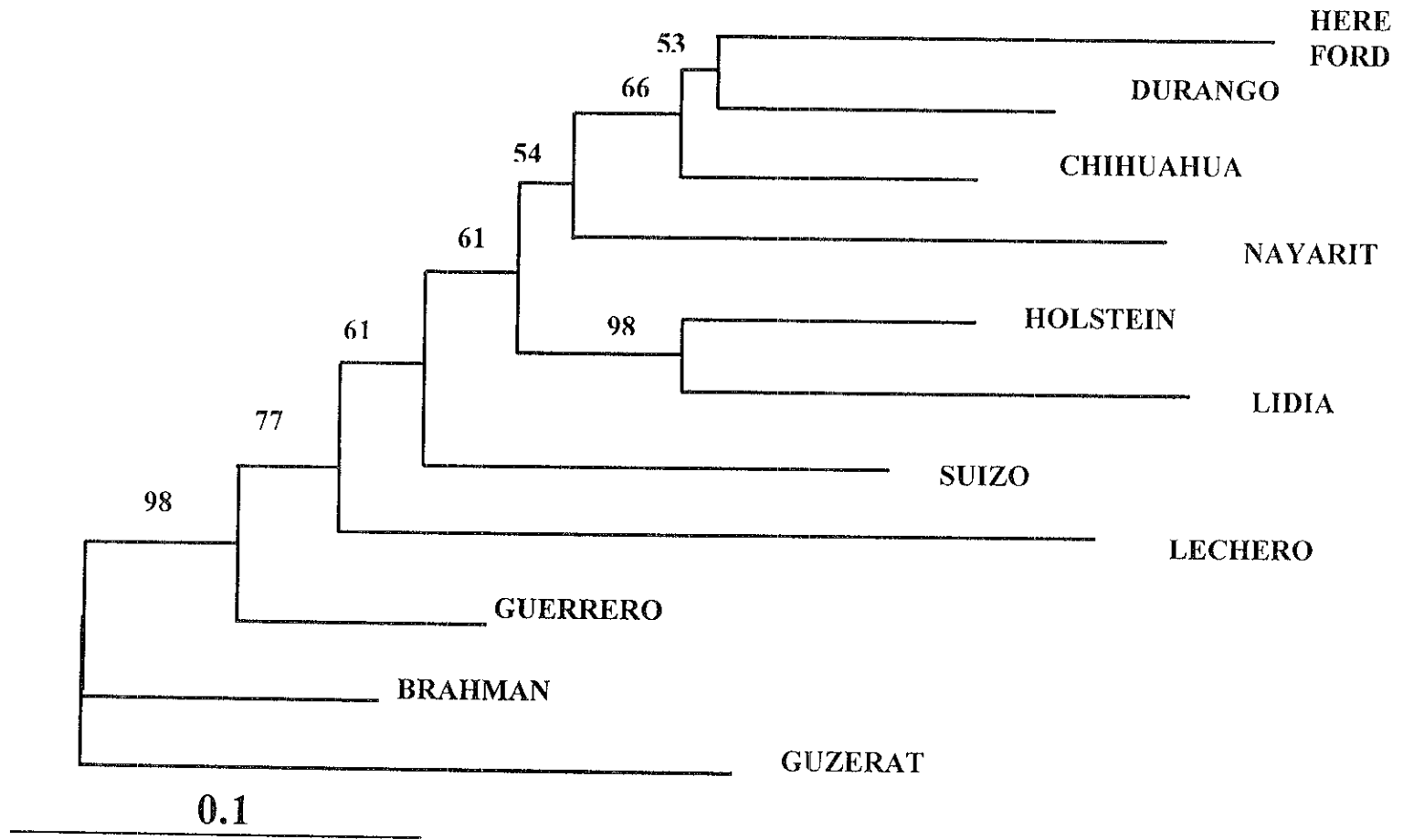


Figura 3.1. Dendrograma que resume las distancias DA calculadas con 9 microsatélites y el gen de la kappa caseína en 11 grupos genéticos. Los número junto a los nodos son los valores de bootstrap que indican la confiabilidad de la topología de cada brazo. La escala lineal relaciona la longitud de los brazos en unidades de DA

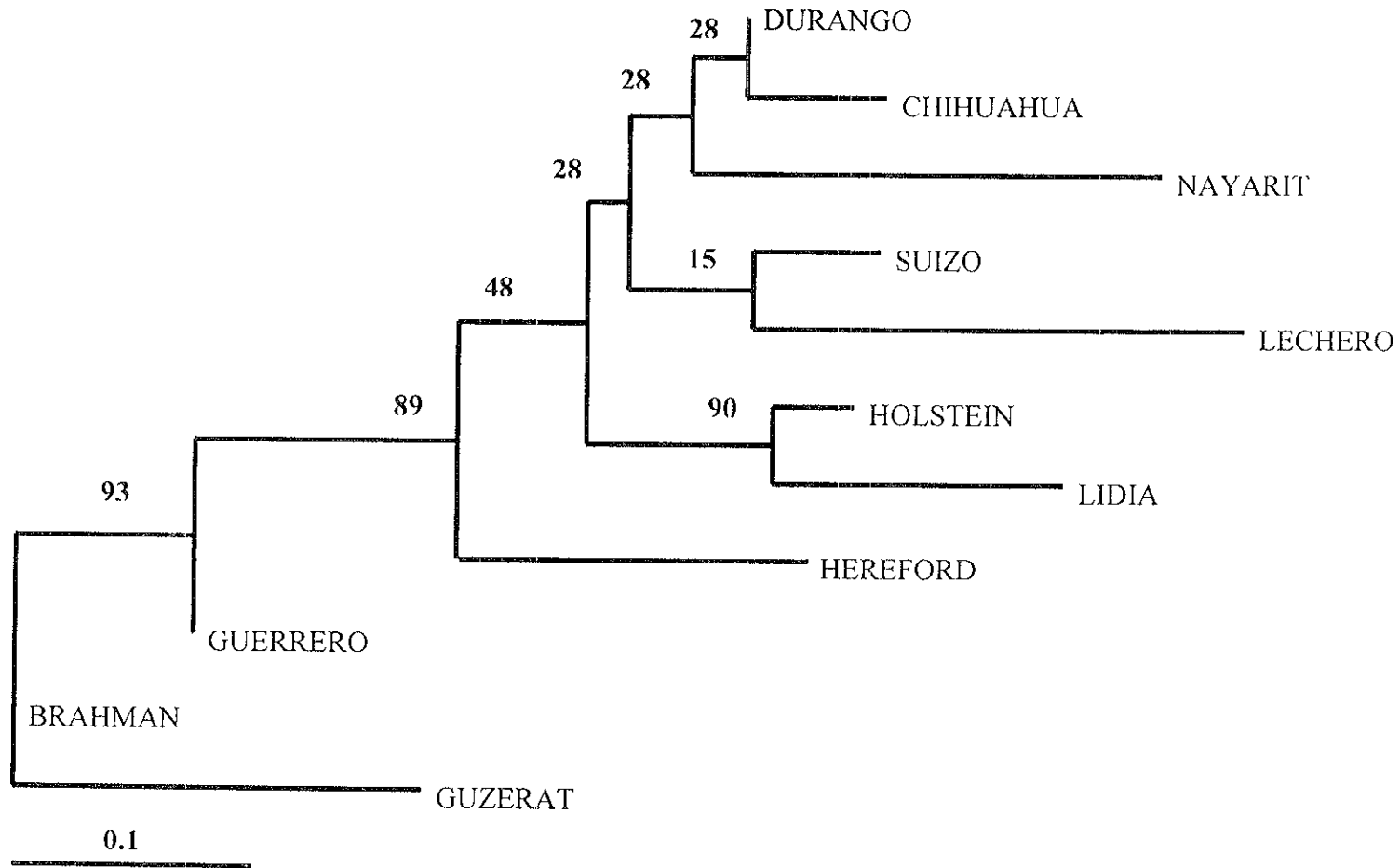


Figura 3.2. Dendrograma que resume las distancias DS calculadas con 9 microsatélites y el gen de la kappa caseína en 11 grupos genéticos. Los números junto a los nodos son los valores de bootstrap que indican la confiabilidad de la topología de cada brazo. La escala lineal relaciona la longitud de los brazos en unidades de DS

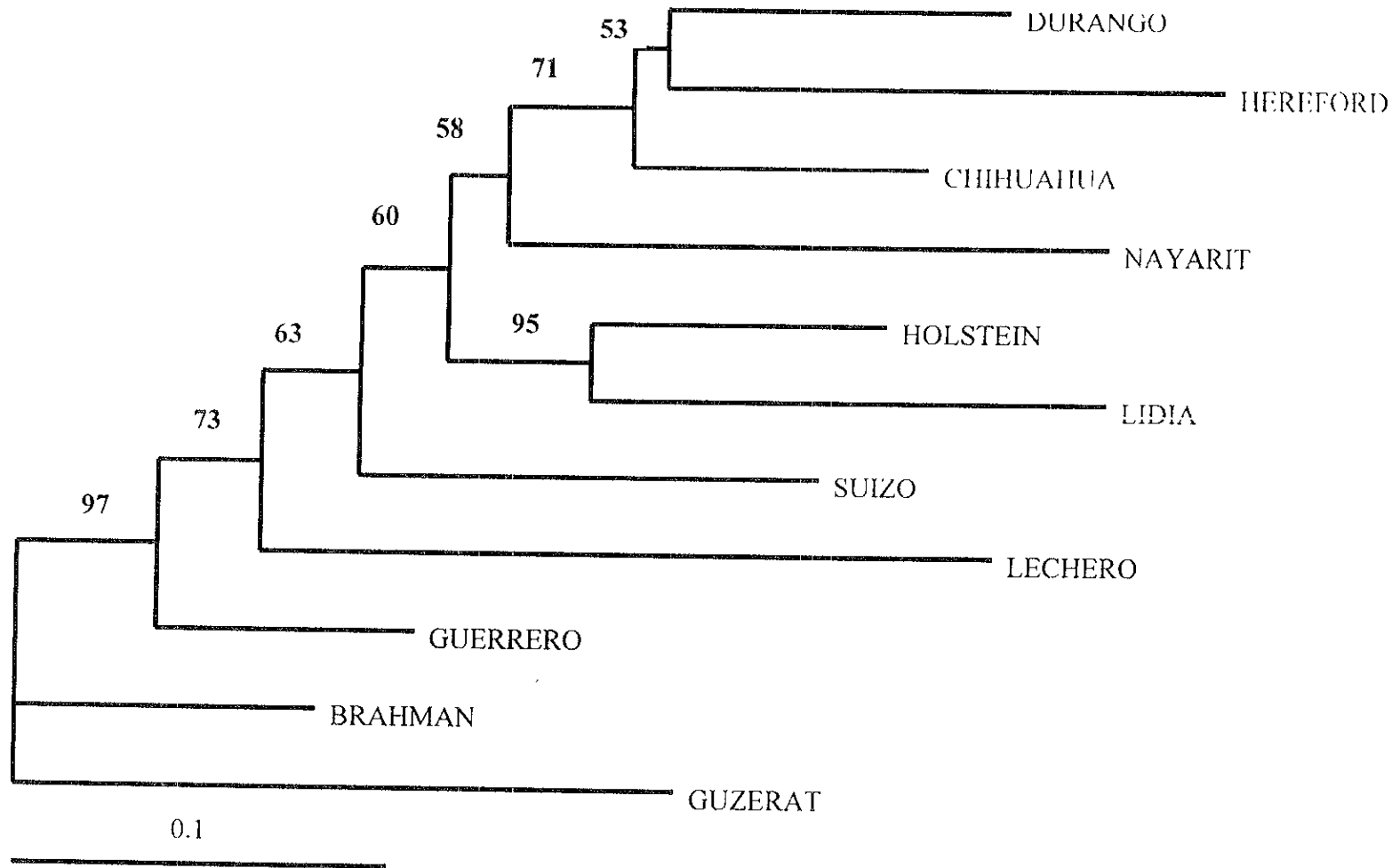


Figura 3.3. Dendrograma que resume las distancias DA calculadas con 9 microsatélites en 11 grupos genéticos. Los número junto a los nodos son los valores de bootstrap que indican la confiabilidad de la topología de cada brazo. La escala lineal relaciona la longitud de los brazos en unidades de DA

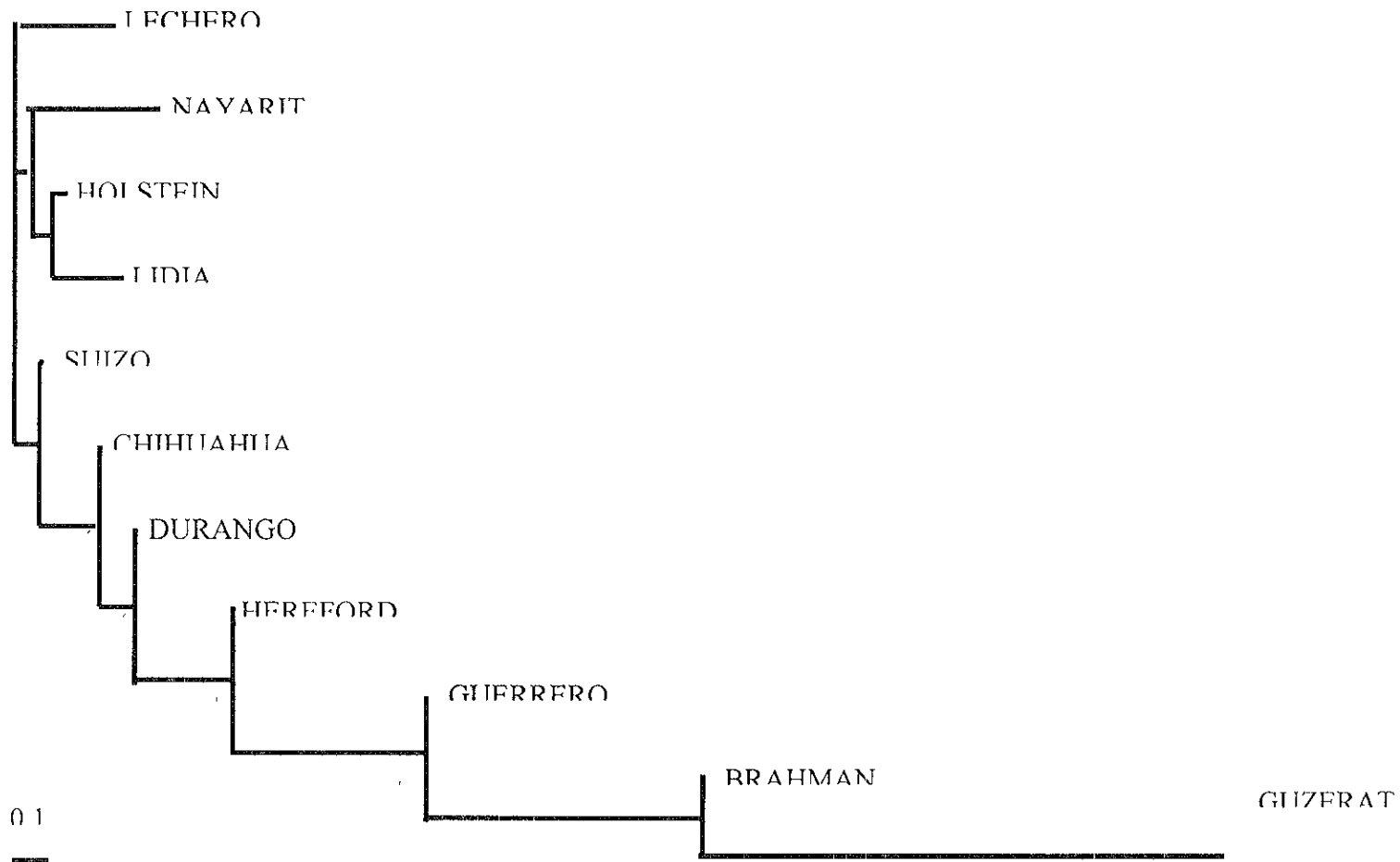
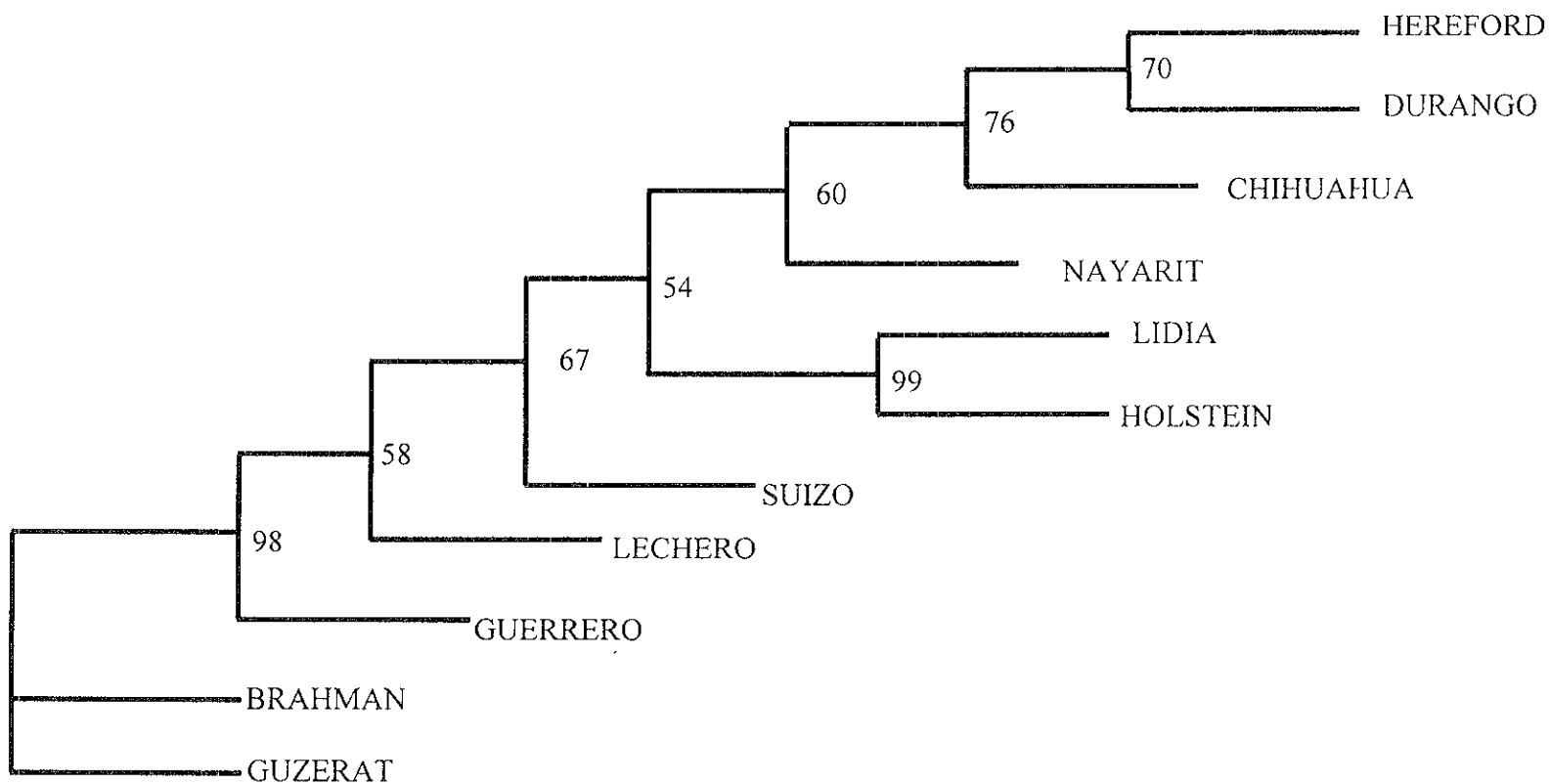


Figura 3.4. Dendrograma que resume las distancias DS calculadas con 9 microsatélites en 11 grupos genéticos. Los número junto a los nodos son los valores de bootstrap que indican la confiabilidad de la topología de cada brazo. La escala lineal relaciona la longitud de los brazos en unidades de DS



10

Figura 3.5. Dendrograma que resume las distancias DK calculadas con 9 microsatélites en 11 grupos genéticos. Los número junto a los nodos son los valores de bootstrap que indican la confiabilidad de la topología de cada brazo. La escala lineal relaciona la longitud de los brazos en unidades de DK

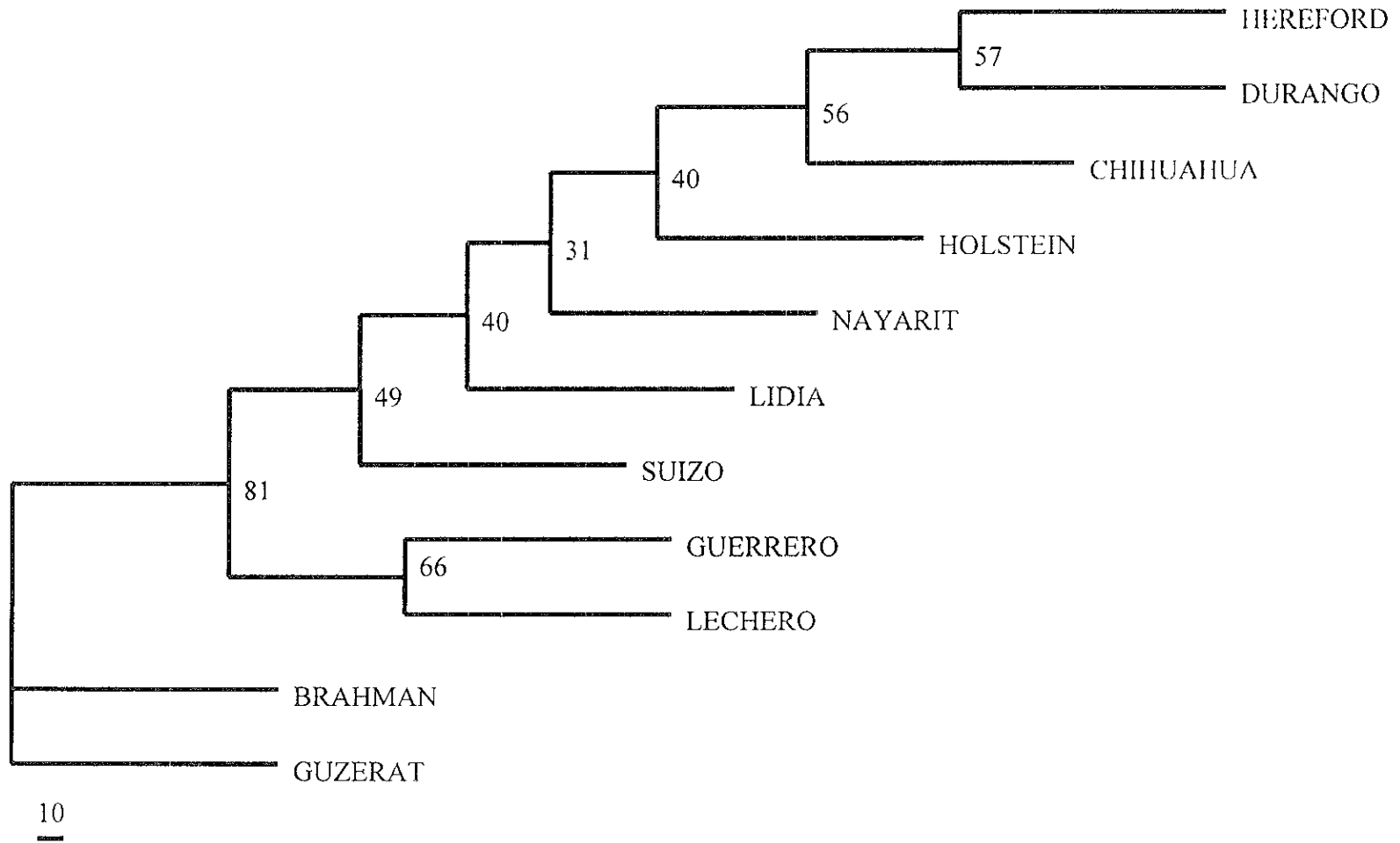
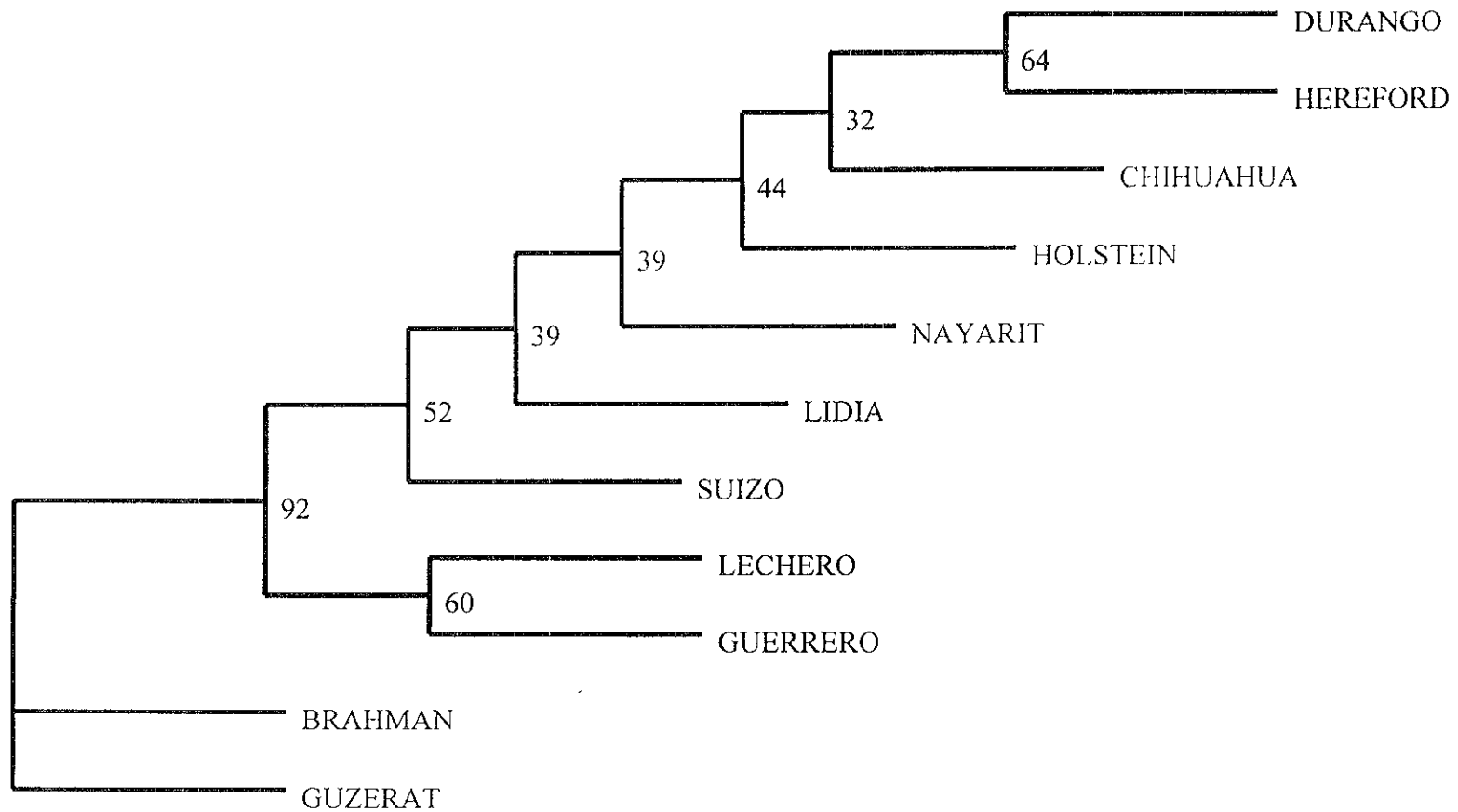


Figura 3.6. Dendrograma que resume las distancias DT calculadas con 9 microsátélites en 11 grupos genéticos. Los número junto a los nodos son los valores de bootstrap que indican la confiabilidad de la topología de cada brazo. La escala lineal relaciona la longitud de los brazos en unidades de DT.



10

Figura 3.7. Dendrograma que resume las distancias DG calculadas con 9 microsátélites en 11 grupos genéticos. Los número junto a los nodos son los valores de bootstrap que indican la confiabilidad de la topología de cada brazo. La escala lineal relaciona la longitud de los brazos en unidades de DG.

## 4. DISCUSIÓN

### 4.1. Diversidad genética

MacHugh (1996) reporta heterocigocidades observadas en una muestra de 728 animales de 20 poblaciones con 20 microsátélites, de 0.15 (locus PRL) a 0.82 (locus BoLA-DRP1) y un promedio de 0.55 lo cual es superior a este estudio

La diversidad génica promedio de los microsátélites usados en este estudio fue ligeramente superior a la obtenida en otros estudios en bovinos (MacHugh, 1996, Martín-Burriel *et al.*, 1999) y en humanos (Bowcock *et al.*, 1994);

MacHugh *et al.* (1994) encontraron, en razas de bovinos europeas, asiáticas y africanas, que la heterocigocidad o diversidad genética fue de 0.84 para el BoLADRP1; y en D5S1 fue de 0.72 y en D9S1 de 0.79. Mientras que Rodellar *et al.* (1996), reportan, en razas españolas, un valor de 0.81 para el D9S1. Por su parte, Arranz *et al.* (1996) estudiando otras 4 razas españolas y otros 5 microsátélites, encontraron heterocigocidades promedio de 69% en Suizo Pardo a 76.5 % en la raza Morucha

Como se esperaba, por tener dos alelos, la Kappa Caseína presentó una menor diversidad (33%) que la de los MS; la frecuencia más baja se observó en el ganado de Lidia (12%) y la más alta fue en Suizo Pardo y Criollo Lechero Centroamericano (49.9%). El valor de Heterocigocidad de esta proteína es superior a los que Bowcock *et al.* (1994) reportan en los marcadores tradicionalmente usados (20%). Por su parte, Blott *et al.* (1998b) utilizaron 11 grupos sanguíneos y dos proteínas séricas para estudiar las relaciones genéticas de 37 razas europeas y encontraron heterocigocidades promedio de 17.5 a 36.3%. Por otro lado, Arranz *et al.* (1996) encontraron que de 14 marcadores de proteínas el 71% fueron polimórficos, de tal forma que las heterocigocidades promedios en 4 razas españolas y la Suizo Pardo varió de 0.2 a 0.26

Lien *et al.*, (1999) estudiaron la proteínas lácteas y encontraron que la Caseína alfaS1 fue monomórfica (alelo más frecuente mayor a 95%) en el 36% de las razas de bovinos nórdicos estudiados (una raza con frecuencia del alelo B igual a 95.8% y en 7 razas se encontró fijado el alelo); la lactoglobulina fue monomórfica en 2 de 22 razas, mientras que en la beta y kappa caseína en todos los grupos presentaron frecuencias intermedias. En la kappa caseína la diversidad genética varió de 25 al 63%. La razón por la cual la diversidad



de la kappa caseína no fue mayor de 50%, se debe a que sólo se determinaron 2 alelos (A y B), mientras que el estudio de los nórdicos, se determinó también el alelo E. La diversidad máxima que se puede obtener con dos alelos es de 50% mientras que con tres es de 66% y se va incrementando conforme se incrementa el número de alelos del locus.

En general, la diversidad genética fue ligeramente superior en los grupos criollos que en las razas puras. El valor obtenido en el ganado de Lidia (0.71) comprueba el hecho que existe una mayor grado de parentesco. Kidd *et al.* (1980) también reportan valores altos de homocigocidad en este ganado utilizando grupos sanguíneos y proteínas sanguíneas que van de 35 al 99%. Similarmente, Martín-Burriel *et al.* (1999) reportan un valor de 0.51 para  $H_o$  y 0.59 para  $H_s$  en ganado de Lidia, que fueron los más bajos del estudio que realizaron con 29 microsatélites en seis poblaciones nativas españolas.

#### 4.2. Estructura jerárquica.

En el análisis con niveles jerárquicos, los valores de  $F_{IS}$  se incrementan conforme el nivel de agregación también lo hace (ver cuadro 3.7). Esto sugiere que los diferentes niveles son un aglomerado de subpoblaciones. Los criollos mexicanos están compuestos por subpoblaciones diferenciadas; y las variedades a su vez, están compuestas por razas. El valor de  $G_{ST}$  general 0.0815 es similar a otros estudios. En 10 razas españolas de perros, Jordana *et al.* (1992) reportan un valor de  $F_{ST}$  de 0.099. Por su parte MacHugh *et al.* (1998), en bovinos, encontraron un valor de 0.104. De acuerdo a estos valores, la proporción de la variación génica atribuible a diferencias a entre los 11 grupos es de alrededor del 8% de la variación genética total, y el 92% restante corresponde a diferencias entre individuos.

El exceso de homocigocidad promedio en los criollos mexicanos fue menor ( $F_{IS}=0.41$ ) que el promedio de los 11 grupos (nivel 4,  $F_{IS}=0.46$ ). Las causas del exceso de la homocigocidad son varias. El efecto de Walhund es una explicación en el caso de los criollos mexicanos ya que se procuró muestrear al máximo de propietarios con la idea de evitar genotipificar animales emparentados. Si bien en el caso de Nayarit se consideró sólo el hato del CE "El Verdineño", este no es cerrado, es decir, que se han estado introduciendo

sementales (Montaño M., comunicación personal) lo que implica que existe una estructura en ese grupo de criollos, aunque mas bien parece un caso especial de migración entre subpoblaciones de criollos de Nayarit debido a que existe un movimiento anual de animales de la Sierra del estado a la Costa y la posibilidad de que se mezcle animales del norte con los del sur es poca. Por otro lado, no hay que descartar el hecho de que exista un gran parentesco entre los animales del Campo experimental, ya que el hato se formo hace casi 20 años.

En el caso del Criollo Lechero Centroamericano, por ser un grupo genético de reciente importación a México, tiene sólo dos loci con una  $F_{IS}$  no significativa que puede deberse a que se presentó un efecto fundador. En el ganado de Lidia, el exceso de homocigosis se debe, por una parte, a que los animales que se analizaron provienen de varias ganaderías (efecto de Wahlund) y, además, por estudios genealógicos se ha reportado diferentes grados de consanguinidad en este tipo de ganado (Kidd *et al.*, 1980; Mendieta y Gutiérrez, 1996; Martín-Burriel *et al.*, 1999). Si bien la crianza de este tipo de ganado en México lleva casi el mismo tiempo que el ganado criollo (alrededor de 450 años), la migración de animales de origen ibérico fue interrumpida en 1945 por cuestiones sanitarias, el origen del ganado bravo en México proviene de 19 sublíneas que fueron utilizadas por 4 ganaderías fundadoras en México (Mendieta y Gutiérrez, 1996); por otro lado, dentro del mismo país mas que barreras geográficas, se presentan barreras artificiales creadas por los ganaderos, lo que propicia la consanguinidad.

En cuanto a las razas puras, se observó que en el Pardo Suizo, todos valores de  $F_{IS}$  fueron mayores que cero. De todas las razas los animales Guzerat provienen de un sólo hato (CE El Verdineño); si bien se han introducido sementales de otros hatos, en México de hecho, hay pocos productores de esta raza, 15 ganaderos con 1500 animales de registro, aunado a esto, en el campo experimental se lleva un programa de cruzamiento con Criollo, lo que reduce tu tamaño efectivo y provoca el aumento del parentesco entre los animales Guzerat. En cuanto a las demás razas, la explicación del homocigosis es el efecto del Wahlund. De hecho en un estudio con microsatélites en Holstein se encuentra una diferenciación entre Holstein Americano y Canadiense y estos a su vez se diferencian de los Holstein europeos (Hanslik *et al.*, 2000), en el estudio reportan homocigocidades

observadas de 37 y 39% para los animales canadienses y americanos, respectivamente, mientras que en el presente estudio la  $H_O$  fue de 0.48 (cuadro 3.6). Los animales usados en este estudio tienen estos orígenes, pero, no se considero esta clasificación para el estudio. Por otra parte, en el Pardo Suizo la  $H_O$  en este estudio tuvo un promedio de 35 % mientras que en el Pardo Suizo europeo se reporta 50 % (Hanslik *et al.*, 2000).

Para los valores del grado de diferenciación genética, MacHugh *et al.* (1998) reportan para BoLA DRP1 un valor de  $F_{ST}$  de 0.05 y de  $G_{ST}$  de 0.039, en el presente estudio fue ligeramente superior; mientras que para el D5S1  $F_{ST}$  fue de 0.11 y  $G_{ST}$ = 0.102 estos valores son similares a los encontrados para las 11 poblaciones bovinas en México, aunque en este caso fue ligeramente inferior  $F_{ST}$ = 0.079 y  $G_{ST}$ =0.081.

El valor tan grande de  $F_{ST}$  para el gen de la kappa caseína era de esperarse, ya que existen grandes diferencias en las frecuencias de este gen debidas a una respuesta indirecta a la selección. En las razas cebuinas fue menor a 0.08 y en el Suizo y Criollo Lechero Centroamericano tiene una frecuencia para el alelo B de más del 0.5. En ninguno de los grupos estudiados tiene antecedentes de una selección directa sobre este gen, sin embargo, en la raza Holstein puede haber sucedido una respuesta indirecta negativa en contra el alelo B al seleccionar por volumen en la producción láctea, mientras que en la raza Pardo Suizo mostraría una respuesta positiva para el alelo.

#### 4.3. Distancias Genéticas

El muestreo de los animales criollos se realizó en tres puntos de la Sierra Madre Occidental, y se ubica de los 104° longitud oeste en Nayarit a 107° en Chihuahua. En cuanto a la longitud norte, la sierra de Chihuahua donde se muestreo fue alrededor de los 27°; mientras que en la sierra de Durango fue en los 23° y Nayarit en los 22°. Por otro lado, la región denominada "Tierra Caliente" en Guerrero, se localiza a 18° 21' latitud norte y 100° longitud oeste (ver figura 2.1). Al comparar las coordenadas con las DS, se detecta una relación positiva; esta asociación con la distancia geográfica coincide con el patrón de flujo de la colonización que se dio en lo que hoy es la república mexicana (grafica 1.2). Una vez que las primeras zonas ganaderas se establecieron (1540) en la parte central del país (Guanajuato, Aguascalientes y Zacatecas), debido a que la industria minera

demandaba grandes cantidades de cebo y cueros de bovino (Rouse, 1977; Espín y de Leonardo, 1978, García, 1999), los bovinos fueron llevados hacia el norte a las nuevas áreas de colonización. En 1565 ya existían bovinos en el norte de Nayarit, pero no en Durango y Chihuahua (Rouse, 1977). En 1800 todo el país estaba poblado, sin embargo, las partes altas (Sierra Madre Occidental) fueron las últimas zonas en poblarse (gráfica 1.2).

Es probable que en cada nueva área ganadera se haya presentado un efecto fundador (bottleneck effect) que tiene como consecuencia un incremento en la distancia genética entre las subpoblaciones (Nei, 1987); sin embargo, la distancia genética se debió de haber reducido por el crecimiento explosivo de esta especie, ante la abundancia de pastos que había en esa época (De Alba, 1987); un factor adicional que reduce las diferencias entre las subpoblaciones es la migración, sin embargo, la tasa de migración es inversamente proporcional a la distancia geográfica; de este modo constituye una diferenciación peripátrica.

La variabilidad genética entre y dentro de las subpoblaciones se ha modificado a través del tiempo; en la colonia por cuestiones económicas hubo reducciones drásticas en la población bovina e incluso algunas regiones quedaron despobladas (Espín y de Leonardo, 1978). En el siglo XIX y primeros 30 años del siglo XX, hubo fluctuaciones en los inventarios por la inestabilidad política del país.

Actualmente los bovinos criollos se localizan en su mayoría en la Sierra Madre Occidental, y es posible que estas zonas se hayan poblado hasta el siglo XX, ya que los grupos étnicos que actualmente habitan esas zonas, no se les permitía poseer ganado mayor en la época Colonial. Con la reducción dramática en el norte del país debido a la revolución mexicana disminuyendo en un 80% (Rios *et al.*, 1998), se formaron poblaciones de bovinos aisladas en la Sierra; ya que si bien en los estados de Durango y Chihuahua hubo un crecimiento de la ganadería posterior la tercera década del siglo XX, este fue dado con la introducción de animales de raza y absorciones de manera que los bovinos que se estudiaron están aislados geográficamente.

Cuando el punto de referencia es GRO, es decir la orientación de sur a norte, sólo con  $D_G$  se mantiene la relación positiva; en cambio con las demás medidas de distancia, CHIH aparece más cercano a GRO y la mayor distancia genética se observa con NAY. Esto puede

deberse a efectos de muestreo, es decir, hace falta incluir más individuos por grupo genético y, sobretodo, utilizar más marcadores moleculares

La población de bovinos criollos ancestral de los cuatro grupos aquí estudiados fue de los primeros en desaparecer debido a su localización geográfica (centro del país). Se deduce que de esta misma población se originó NAY y DGO, y, esta última, originó a CHIH. Sin embargo, de acuerdo con Rouse (1977) la región de Nayarit y Guerrero ya tenían bovinos hacia el año de 1565 (figura 1.1.). Pero, como se mencionó anteriormente, la Sierra Madre Occidental fue de las últimas áreas que se poblaron de bovinos en México. De ahí que es posible que los bovinos de la Sierra de Nayarit provengan del estado de Durango. Con este patrón de migración se explica la mayor distancia genética que tienen GRO y NAY aunque la mayor distancia física se da entre Guerrero y Chihuahua.

Otra explicación alterna es que GRO es el grupo criollo más contaminado con cebú y NAY el menos o no contaminado. Si bien, por inspección visual y por información proporcionada por los propietarios, los animales muestreados no presentaban rasgos del tipo cebú, la diferencia genética con respecto al Brahman es de las más bajas ( $D_S=0.06$ ) encontradas en este estudio y para el Guzerat  $D_S$  fue de 0.17. En la zona de “Tierra Caliente”, alrededor del 37.8% de los bovinos son cebú y el 17.1% son Pardo Suizo, mientras que el 24% son cruza de cebú, Pardo Suizo y criollo, y el 18.7% fue clasificado como criollo (Boiro y Ulloa, 1997); se estimó 75 000 animales criollos en la región (Boiro y Ulloa, datos no publicados), sin embargo, los resultados del presente trabajo, sugieren que los animales clasificados como criollos tienen diversos grados de mezcla con los cebúes. una de las causas de la mala clasificación es el concepto que tienen los propietarios de la palabra criollo: bovino nacido en la explotación (Ulloa, 1983). Ahora bien, GUZ y NAY es la distancia más grande encontrada en este estudio, lo que corrobora que entre los criollos NAY es el menos contaminado con cebú.

En cuanto al ganado de lidia, aparece equidistante con GRO y DGO ( $D_S=0.27$ ), y más alejado de CHIH ( $D_S=0.37$ ) y de NAY ( $D_S=0.4$ ). Debido a que el ganado de LIDIA, tuvo su base genética en el ganado criollo original, las distancias son, en general, menores a las observadas con los otros grupos, con excepción de HOLS ( $D_S=0.15$ ). Este resultado es totalmente inesperado, la única explicación es que debido a que es una población cerrada

con un tamaño efectivo no muy grande, los cambios en las frecuencias alélicas de los MS debidos a la deriva génica, casualmente fueron parecidas a las que se dieron en HOLS. En las frecuencias de la Kappa Caseína, HOLS y Lidia son semejantes, pero al no incluir esta información, permanece la misma tendencia.

#### **4.4. Comparación de distancias y Análisis filogenético.**

Como medio de comparar las distancias entre un grupo de OTU, se desarrollaron diversas metodologías para representar gráficamente las relaciones. Los dendrogramas, arboles o filogramas, se construyen con base al tipo de información utilizada debido a los supuestos que a que obliga la metodología. El método de Neighbour-Joining, no supone una misma tasa de mutación en todas las ramas.

Con base a simulaciones se ha encontrado que la distancia  $D_A$  recobra con mayor probabilidad la topología verdadera del árbol (Takesaki y Nei, 1996); por esta razón, esta topología fue la que se escogió como punto de comparación para las otras dendrogramas. Al obtener la distancia a partir de datos reales no es posible establecer algún grado de error que se pudiera dar. Los valores de bootstrap, indican la confiabilidad de la topología en cada brazo; por ejemplo en la figura 3.1 se presenta un árbol consenso obtenido a partir de 1000 árboles; y en 980 de esos 1000 ó 98 de cada 100 árboles, aparecen juntos el Guzerat y Brahman. Pero los valores son obtenidos a partir de una base de frecuencias alélicas. La diferencia entre dos réplicas radica en que pueden tener distintos loci involucrados, ya que el muestreo tipo bootstrapping es con reemplazo de tal forma que un locus puede ser escogido más de una vez y por ende alguno u algunos otros loci no aparecen y se espera que en otras replicas la combinación de loci incluidos sea diferente.

A pesar de lo esperado,  $D_S$  produjo una topología que coincide más con la hipótesis original, ya que los criollos NAY, DGO y CHIH están en una clade; Suizo y Criollo Lechero Centroamericano (el cual ha sido seleccionado para producción de leche) están en otra clade; y el Hereford no esta cerca de los criollos del norte del país. Sin embargo, Holstein y Lidia están en una misma clade.

El gen de la kappa caseína se considera poco informativo debido a que tiene 2 alelos; y se esperaba que su inclusión no afectaría la topología de árbol. Así, no hubo diferencias

entre  $D_A$  y  $D_{Am}$ ; pero tuvo un gran efecto en la distancia genética estandarizada de Nei, en donde al no incluir la kappa caseína la topología resultó totalmente diferente. Con  $D_s$  parecería que las frecuencias tan altas y parecidas del alelo B en el Suizo y Criollo Lechero influyó en que aparecieran en una clade (figura 3.2); así como, los criollos NAY, DGO y CHIH, en los cuales la frecuencia del alelo B son parecidas entre estos grupos pero mayor que la observada en el Hereford. Si bien el ganado de Lidia presentó la frecuencia más baja del alelo B de la kappa caseína no explica que aparezca junto con el Holstein, que también tiene una frecuencia baja del alelo, ya que al utilizar  $D_{Sm}$  siguen apareciendo estos dos grupos en una clade. La kappa caseína es el único locus incluido en el cual puede estar operando la selección; ya que se ha reportado que el alelo B está relacionado con mayores porcentajes de grasa y rendimiento en queso.

En el caso de Suizo se explica como una respuesta positiva correlacionada ya que esta raza presenta altos porcentajes de grasa, una situación contraria aparece en Holstein, en donde la selección ha sido a favor del volumen lo que ocasiona que el porcentaje de grasa baje; El Criollo Lechero Centroamericano ha sido seleccionado para la producción de leche en el trópico, la selección de este ganado no ha sido óptima (pruebas de progenie), aunque es probable que un criterio de selección haya sido el color de la leche (o "capacidad de formar nata" de la leche) por su correlación con la cantidad de grasa, sin embargo, el progreso genético logrado debe ser bajo por la dificultad de clasificar adecuadamente a las vacas bajo estos criterios evaluados subjetivamente. Las frecuencias en los demás grupos no se explican. Frecuencias relativamente altas del alelo B se ha reportado en razas antiguas como en España, países nórdicos y africanos. Una explicación es una selección natural a favor del heterocigoto; sin embargo, esto no aplica al ganado de Lidia, el cual es considerado como un animal rústico. En el caso del ganado de Lidia se explica por un efecto fundador, ya que evaluaciones hechas en ganado de Lidia español las frecuencias del alelo B es intermedia.

Por otro lado, Moazami *et al.* (1997) mencionan que la distancia genética estandarizada de Nei, es capaz de diferenciar razas no muy relacionadas pero no en aquellas cercanas. Y por otro lado, Blott *et al.* (1999) determinan que para observar una buena

diferenciación entre razas relacionadas es necesario calcular las distancias con 30 microsatélites.

La construcción del dendrograma con  $D_K$ , tuvo la misma topología que  $D_{Am}$  y  $D_A$ ; e incluso con menor información que  $D_A$ , se observó una mejor confiabilidad. Es necesario, investigar más las propiedades de esta medida, ya que si bien, en otras áreas como la termodinámica y teoría información es muy utilizada, en estudios filogenéticos no lo es.

El hecho que alguno(s) de los alelos tengan frecuencias nulas, ya sea por el tamaño de la muestra o por la inexistencia de ese alelo en una determinada población, hace que la formula no se pueda aplicar, ya que implica dividir entre cero. En el presente estudio, se optó por incluir un número muy pequeño ( $1 \times 10^{-12}$ ); pero, como alternativa, esta la de eliminar ese alelo en ambas poblaciones (Kazarinova y Hummel, 1991).

#### **4.5. Conclusión.**

Existe una gran diversidad genética entre los grupos criollos mexicanos incluidos en este estudio que ha sido producto de efectos de fundador, y varios procesos de crecimiento explosivo y reducciones dramáticas y su posterior aislamiento geográfico, así como por evolución por deriva génica.

Es notable el grado de homocigosis dentro de las poblaciones criollas debido, probablemente, al reducido tamaño efectivo de la población y a que también existe una estructura reproductiva dentro de estas poblaciones que ocasiona que exista una deficiencia aparente de heterocigotos (efecto de Wahlund).

La inclusión del gen de la Kappa caseína en el cálculo de las distancias genéticas, no afectó la distancia modificada de Cavalli-Sforza y Edwards ( $D_A$ ) pero si influyó la distancia genética estandarizada de Nei ( $D_s$ ). Al utilizar la  $D_s$  calculada con todos los loci, se obtuvo una topología que se ajusta mejor a la Hipótesis planteada.

La desviación de Kullback produjo un árbol con la misma topología que el obtenido con la distancia modificada de Cavalli-Sforza y Edwards ( $D_A$ ) pero con un ligero incremento en la confiabilidad en la formación de nodos. Es necesario estudiar más las propiedades de esta medida, ya que al menos en investigaciones de relaciones genéticas no se le ha dado atención.



Hay que realizar más estudios de diversidad genética que incluyan bovinos que se localizan en zonas ecológicas diferentes a las aquí estudiadas como son: la Península de Baja California, en los estados de Jalisco, Michoacán, Sierra de Guerrero, Oaxaca y Chiapas, lugares donde se sabe todavía hay ganado criollo;. Así como, de incluir un mayor número de microsatélites para poder diferenciar grupos muy relacionados.

## 5. REFERENCIAS

- Alves SA El Cebú, ganado bovino para los países tropicales. UTEHA S A de C.V México, D.F. 1986.
- Azuara BP Selección genética de ganado Criollo mediante la determinación de sus grupos sanguíneos solubles. Tesis de Licenciatura. México, D.F. México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.N.A.M. 1982.
- Arranz JJ, Bayon Y and San Primitivo F. Comparison of protein markers and microsatellites in differentiation of cattle populations. *Animal Genetics* 1996; 27:415-419.
- Barendse W, Armitage SM, Kossarek LM, Shalom A, Kirkpatrick BW, Ryan AM, Clayton D, Li L Neiberger, Zhang N, Grösse WM, Weiss J, Creighton P, McCarthy F, Ron M, Teale AJ, Fries RA, McGraw RA, Moore SS, Georges M, Soller M, Womack JE, Hetzel DJS. A genetic linkage map of the bovine genome *Nat Genet* 1994,6:227-35.
- Barker JSF. A global Protocol for determining genetic distance among domestic livestock breed. Proceedings of the 5th. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. 1994 Guelph, Can. 1994 21.501.508
- Bishop M, Kappes S, Keele J, Stone R, Sunden S, Hawkins G, Solinas Toldo S, Fries R, Grosz M, Yoo J, and Beattie CA genetic linkage map for cattle. *Genetics* 1994 136:619-639.
- Blott SC, Williams JL, Haley CS. Genetic variation within the Hereford breed of cattle *Animal Genetics*; 1998a, 29:202-211.
- Blott SC, Williams JL, Haley CS. Genetic relationships among European cattle breeds. *Animal Genetics*; 1998b, 29:273-282
- Blott SC, Williams JL, Haley CS. Discriminating among cattle breeds using genetic makers. *Heredity* 1999 82:613-619.
- Bodó I. Methods and experience with *in situ* preservation of farm animals. En Wiener G. Editor *Animal genetic resources a Global programme for sustainable development. FAO Animal Production and Health Paper 80* Rome, Italy. Food and Agriculture Organization of the United Nations 1990:85-102.
- Bowcock AM, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J, Minch E, Kidd JR, Cavalli-Sforza LL. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature* 1994 368 455-457.
- Bradley DG Secondary Guidelines for development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans. Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers. Available at. <http://dad.fao.org>
- Bruford MW, Wayne RK. Microsatellites and their application to population genetic studies. *Curr Opin Genet Dev.* 1993 3:939-943.
- Bruford MW, Hanotte O, Brookfield JFY, Burke T. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting In: AR Hoelzel, Editor. *Molecular Genetic Analysis of Populations: The practical Approach Series Irl Press.* New York: Oxford University Press. 1992:225-269.
- Buitkamp J., Zischler H., Epplen J.T and Geldermann H DNA fingerprinting in cattle using oligonucleotide probes. *Animal Genetics* 1991. 22 :137-146.

- Boiro S.O Ulloa A.R. Caracterización de los sistemas de producción bovina en 8 municipios de Tierra Caliente, Guerrero Memorias del XXI Congreso Nacional de Buiatría , 9-12 de julio de 1997. Colima (Colima) México México (D F) Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1997:
- Cavalli-Sforza LL, Edwards AWF. Phylogenetic analysis : models and estimation procedures. *Amer. J Hum Genet.* 1967 19:233-257.
- Cawood AH. DNA fingerprinting. *Clinical Chemistry* 1989 35 (9) 1832-1837
- Ciampòlini R, Moazami-Goudarzi K, Vaiman D, Dillmann C, Mazzanti E, Fouley J, Leveziel H, Cianci D *J.Anim. Sci* 1995 73 3259-3268
- Crow JF and Kimura M An introduction to population genetics theory. Minneapolis, Minnesota USA: Burges Publishing Co 1970
- De Alba J. Criollo cattle in Latin America. En J Hodges Editor. Animal genetic resources. Strategies for improved use and conservation. FAO Animal production and Health Paper. Rome, Italy. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1987: 66: 19-44
- De Alba J y Kennedy BW. Genetic Parameters of purebred and crossbred Milking Criollos in tropical Mexico. *Anim. Prod* 1994; 58:159-165.
- Denicourt D, Sabour MP, McAllister AJ. Detection of bovin k-casein genomic variants by the polymerase chain reaction. *Animal Genetics* 1990; 21:215-216
- Edwards A, Hammond HA, Jin L, Caskey T, Chakraborty R. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four population groups *Genomics* 1992 12:241-253.
- Eggen A, Weiss B. Bovmap Data Base Update 04/05/98 aviable from [://locus.jouy.inra.fr/cgi-bin/bovmap/database/database.pl](http://locus.jouy.inra.fr/cgi-bin/bovmap/database/database.pl).
- Eggen A, Fries R. An integrated cytogenetic and meiotic map of bovine genome. *Animal Genetics.* 1995 26: 215-236.
- Espin J, De Leonardo P. Economía y Sociedad en los Altos de Jalisco Centro de Investigaciones superiores del INAH. México: Editorial Nueva Imagen S.A 1978.
- Espinoza VJL. Producción y Comercialización del ganado Chinampo en Baja California Sur. Hacia el establecimiento del: Programa Nacional de Recursos Genéticos Pecuarios. 1998 13 y 24 de Agosto; Chihuahua Chihuahua México. México D F · Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, 1998:51-54
- Falconer DS. Introduction to Quantitative Genetics. Second edition. New York: Longman Group Ltd. 1981.
- Felsestein J. Confidence limits on phylogenies an approach using the bootstrap *Evolution;* 1985, 394:783-791.
- Felsestein J. PHILIP Phylogeny inference package version 3.55. University of Washington Seattle WA, USA. 1995
- Fierro GJLC, Pámares GJD. El ganado de Rodeo en el Estado de Durango. Hacia el establecimiento del: Programa Nacional de Recursos Genéticos Pecuarios 1998 13 y 24 de Agosto, Chihuahua Chihuahua México México D F · Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, 1998. 55-58..
- Fitzhugh HA Institutional and legal aspect-recent developments and future prospects. En Wiener G Editor Animal genetic resources a Global programme for sustainable

- development *FAO Animal Production and Health Paper 80* Rome Italy Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1990:5-12.
- García MB La introducción del Ganado Conquistadores de cuatro patas *Arqueología Mexicana* 1999 35 62-67.
- Gasque GR Enciclopedia del Ganado Bovino. División del Sistema Universidad Abierta Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia México (D.F.), México. Universidad Nacional Autónoma de México. 1993.
- Georges M, Lequarré AS, Castelli M, Hanset R, Vassart G. DNA fingerprinting in domestic animals using four different minisatellite probes. *Cytogenet Cell Genet* 1988 47:127-131
- Golstein DB, Ruiz-Linares A, Cavalli-Sforza LL, Feldman MW. An evaluation of genetic distance for use with microsatellite loci. *Genetics*, 1995 139 463-471
- Gwakisa PS, Kemp SJ, Teagle AJ Characterization of Zebu cattle breeds in Tanzania using random amplified polymorphic DNA markers. *Animal Genetics* 1994, 25:89-94.
- Graml R, Ohmayer G, Pirchner F, Erhard L, Buchberger L, Gerr D. Biochemical polymorphism in Egyptian Baladi cattle and relationship with other breeds *Anim Blood Group*;1986; 61-76.
- Hanslik S, Harr B, Brem G, Schlötterer. Microsatellite analysis reveals substantial genetic differentiation between contemporary New World and Old World Holstein Friesian populations. *Animal Genetics*; 2000, 31:31-38.
- Hernández PJO. Estimación de las frecuencias alélicas del gen de la kappa-caseína en bovinos criollos mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa. (Tesis Licenciatura) México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.N.A.M.1998.
- Hudges J Review of regional animal gene banks and recommendations from Hannover Workshop on associated topics raised by the Tenth Committee on Agriculture. En: Wiener G. Editor. *Animal genetic resources a Global programme for sustainable development*. FAO Animal Production and Health Paper 80. Rome, Italy Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1990:51-58
- Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature* 1985a 314:67-73.
- Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. *Nature* 1985b 316:76-79
- Joandet GE. Endangered livestock Breeds in Latin America. En: Wiener G. Editor *Animal genetic resources a Global programme for sustainable development* *FAO Animal Production and Health Paper 80* Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1990:231-233
- Kantanen J, Olsaker J, Holm L-E, Vilkki J, Lien S, Sandberg K, Eythorsdottir E, Adalsterinsson. Intra- and interracial genetic variation in north-european Cattle breeds. *Proceedings 6<sup>th</sup> World Congress on Genetics Applied to livestock production*. 1998.
- Kazarinova-Fukshansky N, Hummel K. A new definition of genetic distance *Human Genet* 1991 87:745-747
- Kidd KK, Pirchner F. Genetic relationships of Austrian cattle breeds *Anim. Blood Grps Biochem. Genet.* 1971 2:145-158

- Kidd KK, Stone WH, Crimella C, Carenzi C, Casati M, and Rognoni G. Immunogenetic and population genetic analyses of Iberian cattle *Anim. Blood Gprvs biochem Genet.* 1980 11:21-38
- Kotzé A, Muller GH. 1994 Genetic relationships in Southern African cattle breeds *Proceeding of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production* 1994 Guelph, Can. 1994 21:413-416.
- Lien S, Kantanen J, Olsaker J, Holm L-E, Eythorsdottir E, Sandberg K, Dalsgard B, Adalsterinsson Comparison of milk protein allele frequencies in Nordic cattle breeds *Animal Genetics*, 1999, 30:85-91.
- Lynch M. Estimation of relatedness by DNA fingerprinting *Mol. Biol. Evol.* 1988 5 584-599
- Machugh DE, Loftus RT, Bradley DG, Sharp PM, Cunningham P Microsatellite DNA variation within and among European cattle *Proc R. Soc. Lond B Biol Sci.* 1994 25-31
- MacHugh, DE. *Molecular Biogeography and Genetic Structure of Domesticated Cattle* (Ph D thesis). Dublin, Irlanda: University of Dublin, 1996.
- Martin-Burriel J, Garcia-Muro E, Zaragoza P. Genetic diversity analysis of six Spanish native cattle breed using microsatellites. *Animal Genetics* 1999; 30 177-182
- Martínez VG y Montaña BM Crecimiento hasta el destete en bovinos criollos y Guzerat. *Memorias, Reunión Nacional de Investigación Pecuaria* 1992 Chihuahua, México. 1992
- Mettler LE, Gregg TG, Schaffer HE. *Population Genetics and Evolution.* 2nd de. New Jersey Prentice Hall. 1988
- May B and C C Krueger *GENES IN POPULATIONS Version 2 A computer program for analysis of genetic data.* Cornell Laboratory for Ecological and Evolutionary Genetics Using pull-down 1995
- Mendieta JA. y Miguel G.D. Caracterización de la ganadería para lidia y estimación de parámetros genéticos para el comportamiento durante la tiente. (Tesis de Licenciatura). Tezcoco (México) México. Depto de Zootecnia. U Autónoma de Chapingo, 1996.
- Merlin P, Di Stasio L. 1982. Study on milk proteins loci in some decreasing italian cattle breeds. *Ann. Gen. et Sel. Anim.* 14:17-28.
- Moazami-Goudarzi K, Laloë D, Furet JP, Grosclaude F. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites *Animal Genetics*, 1997; 28 338-345.
- Mondragón VI y Ulloa AR Evolución de la Ganadería Holstein mexicana. Memoria del Seminario Internacional "MEJORAMIENTO GENETICO DE BOVINOS LECHEROS aspectos relevantes sep de 1990 Montecillos, Edo Mexico, México Colegio de Postgraduados. 1990 51-78.
- Montaña BM. Potencial del ganado bovino criollo para incorporarlo en los sistemas de producción de carne Hacia el establecimiento del: Programa Nacional de Recursos Genéticos Pecuarios 13 y 24 de Agosto, 1998; Chihuahua Chihuahua México. México D.F Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, 1998 37-40.
- Mora de la G J *Infraestructura y Desarrollo Agropecuario en México 1910-1987* Centro Nacional de Investigaciones Agrarias D F. México. SARH 1989

- Murphey R M., Bahre C J., Torres-Penedo M C. and Webster G L. 1981. Foraging differences in cattle: fecal analysis of three racial categories in a harsh environment. *Behavior Genetics* 24:385-394.
- Nei M., Tajima F and Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular dataII Gene frequency data. *J. Mol.Evol* 1983 19:153-170.
- Nei M. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 1972, 106:283-292
- Nei M. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press 1987.
- Nei, M. and Roychoudhury A. K. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance *Genetics* 1974, 76 379-390.
- Otta T *DISPAN Genetic distance and phylogenetic analysis*. Pennsylvania State University University Park, USA. 1993.
- Paszek AA, Flickinger GH, Fontanesi L, Beattie CW, Rohrer GA, Alexander L, Schook LB. Evaluating Evolutionary Divergence with microsatellites. *J. Mol Evol* , 1998, 46:121-126
- Peelman LJ, Mortiaux F, Van Zeveren A, Dansercoer A, Mommens G, Coopman F, Bouquet Y, Burny A, Renaville R, Portetelle. Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite marker in four Belgian cattle breeds. *Animal Genetics*; 1998 29:161-167
- Pirchner F *Population Genetics in Animal Breeding* 2d edition San Francisco: *W.H. Freeman and Company*. 1981
- Queller D.C , Strassmann J.E. and Hughes C.R.. Microsatellites and kinship *TREE* 1993, 88:285-288.
- Ramel C. Mini- and microsatellites. *Environ Health Perspect* 1997, 105 *Suppl* 4: 781-789.
- Ríos RJG, Rodríguez AFA. El ganado bovino criollo en el norte de México. *Memorias del Segundo Foro de Análisis de los Recursos Genéticos: Ganado Criollo Hacia el establecimiento del Programa Nacional de Recursos Genéticos Pecuarios* 1998 13 y 24 de Agosto, Chihuahua Chihuahua México. México D F. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, 1998:4-9.
- Ríos RJG, Rodríguez AFA, Espinoza VJL y Fierro LC. Los criollos para rodeo y su contribución hacia la sustentabilidad de los sistemas de producción *Memorias del IV Congreso Iberoamericano de Raza Autóctonas y Criollas del 23 al 27 de Noviembre de 1998 Tampico Tamaulipas, México* 1998
- Rodríguez AFA, Ríos RJG, Hernández SRM, Ortega GJA. Programas de investigación sobre ganado de Rodeo en el Estado de Chihuahua. *Hacia el establecimiento del Programa Nacional de Recursos Genéticos Pecuarios*. 1998 13 y 24 de Agosto; Chihuahua Chihuahua México. México D.F.: Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, 1998:12-22.
- Rodellar C, Martin-Burriel I, Cons C and Zaragoza I. Genetic Structure and distance between three Spanish bovine breeds using INRA 5, 62, ETH3, 10, 225 and ILSTS005 microsatellites. *Anim Genet*. 1996; 27 supplement 2: 25. 1996,
- Rouse J E *The Criollo Spanish cattle in the Americas* Oklahoma, U S A *The University of Oklahoma Press* 1977
- SAGAR. *Inventario Ganadero* 1997. Centro Nacional de Estadística Dirección General de Ganadería México, D F SAGAR, 1998

- SAGAR Registros Genealógicos Subdirección de Genética y Reproducción. Dirección General de Ganadería. México (D F). Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural, 2000.
- Saitou N and Nei M. The Neighbor-joining Method: A new method for reconstruction phylogenetic trees. 1987, *Mol. Biol. Evol.* 4:406-425
- Saucedo MP Historia de la Ganadería en México. Tomo 1. México (D F). Universidad Nacional Autónoma de México 1984.
- Shin H-S, Bargiello TA, Clark BT, Jackson FR and Young MW An unusual coding sequences from a *Drosophila* clock gene is conserved in vertebrates 1985, *Nature* 317:445-448.
- Singer M and Berg P. Genes & Genomes A Changing Perspective. Cal. U.S.A. *University Science Books*. 1991.
- Sneath PHA and Sokal RR. Numerical taxonomy, the principles and practice of numerical classification 2<sup>nd</sup> ed. San Francisco. W.H. Freeman and Company. 1973.
- Spiess E B. Genes in Populations. San Francisco *John Wiley & Sons*. 1980.
- SPSS SPSS for windows Release 8.0.0. SPSS Inc. 1997.
- Stallings R.L Conservation and evolution of CTn/GAn microsatellite sequences at orthologous positions indiverse mammalian genomes. 1995; *Genomics* 25:107-113.
- Studer R. and J.T. Epplen . On organization of animal Genomes: ubiquitous interspersión of repetitive DNA sequences. In: *Genome Analysis in Domestic Animals* H. Geldermann an F ellendorff editores. New York NY USA VCH Publishers Inc 1990
- Takesaki N and Nei M. Genetic distance and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA 1996, *Genetics* 144: 389-399
- Ulloa A. R. Estudio descriptivo de los altos de Jalisco (Tesis Licenciatura) México (D.F.): Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México. 1983.
- UNAM. Atlas Nacional de México Instituto de Geografía. México (D.F.). Universidad Nacional Autónoma de México, 1990
- Valdes AM, Slatkin M, and Freimer NB. Allele frequencies at microsatellite Loci: the stepwise mutation model revisited. 1993; *Genetics* 133:737-749.
- Vásquez PC Historia de la domesticación de los animales explotados en México (Tesis de Licenciatura) México (D.F) Facultad de Ciencias Universidad Nacional Autónoma de México 1973
- Vassart G, Georges M, Monsieur R, Brocas H, Lequarre AS and Christophe D. A sequence in M13 phage detects hypervariable minisatellites in human and animal DNA. 1987; *Science* 235:683-684.
- Vizcarra-Sifuentes O El Cebú en México México, D.F.: *Editorial B. Costa Amic*. 1963
- Weber JL Informativeness of human dC-dA<sub>n</sub>.dG-dT<sub>n</sub> polymorphism 1990; *Genomics* 7 524-530

Cuadro A.1. Frecuencias alélicas del microsatélite D01S8 por grupo genético.

D1	GUERRERO	DURANGO	HEREFORD	CHIHUAHUA	NAYARIT	BRAHMAN	GUZERAT	SUIZO	LECHERO	HOLSTEIN	LIDIA
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
3	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
4	0.000	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
5	0.000	0.042	0.022	0.014	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.021
6	0.022	0.042	0.022	0.000	0.000	0.054	0.000	0.040	0.059	0.000	0.125
7	0.000	0.083	0.000	0.014	0.000	0.018	0.000	0.020	0.000	0.083	0.271
8	0.000	0.021	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
9	0.000	0.042	0.000	0.028	0.000	0.107	0.050	0.060	0.029	0.000	0.042
A	0.078	0.042	0.000	0.014	0.000	0.214	0.250	0.000	0.000	0.000	0.000
B	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	0.050	0.060	0.000	0.000	0.042
C	0.089	0.083	0.109	0.028	0.054	0.107	0.017	0.000	0.029	0.083	0.042
D	0.144	0.083	0.130	0.042	0.464	0.089	0.050	0.000	0.059	0.050	0.063
E	0.056	0.021	0.065	0.083	0.000	0.018	0.033	0.080	0.000	0.017	0.000
F	0.044	0.125	0.087	0.069	0.018	0.107	0.083	0.000	0.000	0.017	0.000
G	0.278	0.125	0.283	0.208	0.000	0.196	0.183	0.200	0.088	0.483	0.167
H	0.089	0.083	0.000	0.097	0.018	0.054	0.083	0.120	0.059	0.100	0.188
I	0.033	0.104	0.109	0.083	0.018	0.018	0.117	0.120	0.206	0.017	0.042
J	0.044	0.083	0.087	0.083	0.232	0.000	0.017	0.120	0.294	0.100	0.000
K	0.033	0.000	0.065	0.208	0.018	0.000	0.033	0.160	0.000	0.050	0.000
L	0.022	0.000	0.000	0.014	0.000	0.000	0.033	0.020	0.059	0.000	0.000
M	0.044	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.000	0.000
N	0.000	0.000	0.000	0.014	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.000	0.000
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Q	0.000	0.000	0.000	0.000	0.089	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
R	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
N°	45.000	24.000	23.000	36.000	28.000	28.000	30.000	25.000	17.000	30.000	24.000



Cuadro A.2. Frecuencias alélicas del microsatélite D09S1 por grupo genético

DI	GUERRERO	DURANGO	HEREFORD	CHIHUAHU A	NAYARIT	BRAHMAN	GUZERAT	SUIZO	LECHERO	HOLSTEIN	LIDIA
1	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.032	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.068	0.000	0.000
3	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.065	0.000	0.000	0.182	0.000	0.000
4	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.043
5	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.091	0.000	0.000
6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.045	0.000	0.000
7	0.010	0.000	0.000	0.000	0.103	0.032	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000
8	0.063	0.146	0.063	0.031	0.128	0.081	0.047	0.031	0.068	0.000	0.065
9	0.083	0.021	0.000	0.010	0.064	0.000	0.031	0.000	0.045	0.017	0.087
A	0.042	0.104	0.021	0.082	0.128	0.000	0.000	0.063	0.068	0.067	0.130
B	0.021	0.042	0.021	0.082	0.103	0.032	0.000	0.094	0.091	0.033	0.109
C	0.042	0.125	0.188	0.122	0.192	0.194	0.047	0.094	0.045	0.250	0.196
D	0.104	0.042	0.104	0.112	0.167	0.081	0.016	0.125	0.114	0.300	0.109
E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.043
F	0.042	0.000	0.063	0.010	0.000	0.016	0.000	0.047	0.000	0.067	0.043
G	0.000	0.063	0.125	0.122	0.026	0.016	0.063	0.016	0.000	0.000	0.000
H	0.000	0.021	0.021	0.051	0.000	0.016	0.000	0.063	0.045	0.100	0.022
I	0.010	0.104	0.354	0.133	0.000	0.129	0.078	0.047	0.091	0.033	0.022
J	0.083	0.000	0.000	0.061	0.013	0.000	0.328	0.078	0.000	0.000	0.043
K	0.292	0.104	0.021	0.061	0.013	0.258	0.281	0.172	0.023	0.133	0.087
L	0.021	0.000	0.000	0.041	0.013	0.032	0.047	0.109	0.023	0.000	0.000
M	0.000	0.104	0.021	0.071	0.000	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
N	0.031	0.021	0.000	0.000	0.013	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000
P	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Q	0.000	0.042	0.000	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
R	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
S	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000
T	0.021	0.021	0.000	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Nº	48.000	24.000	24.000	49.000	39.000	31.000	32.000	32.000	22.000	30.000	23.000

Cuadro A3. Frecuencias alélicas del microsatélite D18S5 por grupo genético

	GUERRERO	DURANGO	HEREFORD	CHIHUAHUA	NAYARIT	BRAHMAN	GUZERAT	SUIZO	LECHERO	HOLSTEIN	LIDIA
1	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
3	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
4	0.000	0.042	0.000	0.000	0.013	0.000	0.000	0.033	0.000	0.000	0.000
5	0.043	0.000	0.021	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.024	0.000	0.000
6	0.000	0.021	0.000	0.020	0.092	0.016	0.000	0.117	0.024	0.036	0.000
7	0.117	0.354	0.250	0.350	0.697	0.097	0.081	0.250	0.214	0.393	0.238
8	0.191	0.271	0.104	0.330	0.053	0.177	0.081	0.233	0.452	0.482	0.429
9	0.021	0.042	0.000	0.010	0.039	0.129	0.016	0.017	0.071	0.054	0.143
A	0.074	0.042	0.042	0.090	0.000	0.081	0.177	0.033	0.071	0.000	0.024
B	0.404	0.146	0.583	0.150	0.039	0.339	0.613	0.133	0.071	0.018	0.095
C	0.128	0.042	0.000	0.010	0.053	0.097	0.032	0.133	0.048	0.018	0.048
D	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.024	0.000	0.024
E	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000	0.000
F	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.032	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
G	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
H	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.032	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
I	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033	0.000	0.000	0.000
Nº	47.000	24.000	24.000	50.000	38.000	31.000	31.000	30.000	21.000	28.000	21.000

Cuadro A4. Frecuencias alélicas del microsatélite D12S4 por grupo genético

	GUERRERO	DURANGO	HEREFORD	CHIHUAHUA	NAYARIT	BRAHMAN	GUZERAT	SUIZO	LECHERO	HOLSTEIN	LIDIA
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000
2	0.012	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000
3	0.000	0.000	0.022	0.031	0.014	0.032	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000
4	0.035	0.000	0.043	0.031	0.000	0.000	0.033	0.000	0.022	0.000	0.000
5	0.035	0.021	0.109	0.063	0.014	0.097	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000
6	0.105	0.063	0.152	0.063	0.014	0.113	0.283	0.000	0.043	0.000	0.042
7	0.151	0.229	0.130	0.141	0.429	0.194	0.067	0.125	0.087	0.094	0.167
8	0.430	0.250	0.283	0.234	0.271	0.387	0.333	0.328	0.457	0.750	0.500
9	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.043	0.000	0.000
A	0.116	0.208	0.196	0.203	0.114	0.129	0.033	0.250	0.000	0.125	0.000
B	0.047	0.000	0.022	0.016	0.014	0.000	0.000	0.047	0.022	0.000	0.000
C	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
D	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
E	0.012	0.000	0.000	0.000	0.000	0.032	0.217	0.000	0.000	0.000	0.000
F	0.035	0.104	0.022	0.063	0.043	0.000	0.000	0.063	0.022	0.031	0.250
G	0.023	0.000	0.000	0.063	0.029	0.016	0.000	0.094	0.109	0.000	0.042
H	0.000	0.083	0.022	0.031	0.057	0.000	0.000	0.031	0.130	0.000	0.000
I	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000
J	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.063	0.000	0.000	0.000
Nº	43 000	24.000	23.000	32.000	35.000	31.000	30.000	32.000	23.000	32.000	24.000

Cuadro A5. Frecuencias alélicas del microsatélite BoLA-DRBP1 por grupo genético

	GUERRERO	DURANGO	HEREFORD	CHIHUAHUA	NAYARIT	BRAHMAN	GUZERAT	SUIZO	LECHERO	HOLSTEIN	LIDIA
1	0.000	0.000	0.000	0.014	0.014	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.083	0.022	0.041	0.014	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
3	0.011	0.104	0.109	0.081	0.086	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000
4	0.096	0.063	0.152	0.068	0.071	0.000	0.034	0.109	0.063	0.258	0.565
5	0.085	0.146	0.130	0.041	0.100	0.019	0.000	0.078	0.063	0.210	0.130
6	0.117	0.146	0.152	0.095	0.071	0.096	0.017	0.047	0.000	0.048	0.000
7	0.074	0.125	0.087	0.135	0.143	0.058	0.086	0.016	0.083	0.081	0.065
8	0.000	0.104	0.022	0.230	0.186	0.077	0.000	0.016	0.021	0.048	0.043
9	0.053	0.042	0.109	0.095	0.186	0.077	0.000	0.063	0.063	0.048	0.043
A	0.021	0.021	0.022	0.054	0.057	0.038	0.103	0.094	0.042	0.000	0.000
B	0.064	0.000	0.022	0.068	0.014	0.038	0.017	0.078	0.000	0.016	0.043
C	0.117	0.021	0.043	0.000	0.000	0.154	0.103	0.156	0.042	0.032	0.000
D	0.085	0.042	0.109	0.027	0.000	0.019	0.155	0.078	0.125	0.065	0.087
E	0.138	0.000	0.022	0.027	0.000	0.135	0.172	0.031	0.146	0.016	0.000
F	0.085	0.021	0.000	0.000	0.000	0.115	0.121	0.047	0.125	0.097	0.000
G	0.053	0.042	0.000	0.000	0.000	0.058	0.034	0.047	0.229	0.032	0.000
H	0.000	0.042	0.000	0.000	0.029	0.000	0.086	0.047	0.000	0.000	0.000
I	0.000	0.000	0.000	0.014	0.000	0.000	0.000	0.063	0.000	0.000	0.022
J	0.000	0.000	0.000	0.014	0.014	0.000	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000
K	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
L	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.115	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
M	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000
N	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.034	0.000	0.000	0.032	0.000
Nº	47.000	24.000	23.000	37.000	35.000	26.000	29.000	32.000	24.000	31.000	23.000

Cuadro A6. Frecuencias alélicas del microsatélite D16S3 por grupo genético.

	GUERRE RO	DURANG O	HEREFO RD	CHIHUA HUA	NAYARIT	BRAHMA N	GUZERA T	SUIZO	LECHER O	HOLSTEI N	LIDIA
1	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.031	0.031	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.000	0.000
3	0.000	0.000	0.000	0.010	0.000	0.032	0.000	0.016	0.000	0.000	0.021
4	0.043	0.000	0.000	0.010	0.000	0.032	0.031	0.094	0.000	0.000	0.000
5	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000	0.031	0.000	0.000	0.042
6	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
7	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.048	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
8	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.048	0.109	0.000	0.024	0.000	0.000
9	0.021	0.063	0.042	0.120	0.000	0.048	0.203	0.016	0.000	0.031	0.104
A	0.011	0.083	0.000	0.170	0.000	0.048	0.125	0.000	0.048	0.031	0.000
B	0.011	0.042	0.042	0.110	0.029	0.097	0.063	0.016	0.024	0.016	0.021
C	0.043	0.000	0.000	0.060	0.015	0.032	0.016	0.000	0.000	0.141	0.063
D	0.245	0.021	0.000	0.010	0.324	0.129	0.047	0.203	0.071	0.188	0.646
E	0.149	0.000	0.042	0.070	0.015	0.081	0.000	0.156	0.214	0.094	0.042
F	0.043	0.063	0.167	0.080	0.029	0.065	0.109	0.047	0.000	0.047	0.000
G	0.053	0.000	0.000	0.000	0.118	0.016	0.000	0.078	0.048	0.109	0.021
H	0.138	0.000	0.000	0.030	0.206	0.065	0.000	0.031	0.048	0.141	0.021
I	0.085	0.000	0.000	0.050	0.059	0.032	0.109	0.094	0.190	0.031	0.000
J	0.011	0.063	0.000	0.000	0.103	0.016	0.047	0.078	0.238	0.000	0.000

Continuación. Cuadro A6. Frecuencias alélicas del microsatélite D16S3 por grupo genético.

	GUERRE RO	DURANG O	HEREFO RD	CHIHUA HUA	NAYARIT	BRAHMA N	GUZERA T	SUIZO	LECHER O	HOLSTEI N	LIDIA
K	0.000	0.063	0.021	0.000	0.000	0.000	0.047	0.000	0.000	0.063	0.000
L	0.021	0.125	0.292	0.000	0.000	0.065	0.031	0.031	0.000	0.063	0.021
M	0.011	0.146	0.000	0.040	0.044	0.016	0.000	0.016	0.000	0.000	0.000
N	0.021	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000
P	0.000	0.021	0.021	0.020	0.000	0.032	0.031	0.016	0.095	0.000	0.000
Q	0.053	0.042	0.229	0.000	0.000	0.048	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000
R	0.021	0.021	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000
S	0.000	0.021	0.000	0.000	0.000	0.032	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
T	0.000	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
U	0.000	0.063	0.042	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
V	0.000	0.000	0.063	0.030	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
W	0.000	0.000	0.000	0.040	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
X	0.000	0.042	0.000	0.040	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Y	0.000	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
N°	47.000	24.000	24.000	50.000	34.000	31.000	32.000	32.000	21.000	32.000	24.000

Cuadro A7. Frecuencias alélicas del microsatélite D18S1 por grupo genético

	GUERRERO	DURANGO	HEREFORD	CHIHUAHUA	NAYARIT	BRAHMAN	GUZERAT	SUIZO	LECHERO	HOLSTEIN	LIDIA
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
3	0.091	0.000	0.000	0.000	0.013	0.038	0.000	0.000	0.023	0.000	0.000
4	0.023	0.000	0.000	0.000	0.013	0.038	0.224	0.000	0.114	0.000	0.000
5	0.045	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.065	0.091	0.031	0.000
6	0.125	0.045	0.000	0.000	0.026	0.038	0.017	0.022	0.227	0.000	0.021
7	0.023	0.000	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.109	0.227	0.000	0.021
8	0.034	0.023	0.000	0.000	0.079	0.019	0.052	0.000	0.045	0.000	0.000
9	0.341	0.000	0.048	0.022	0.158	0.308	0.276	0.043	0.182	0.063	0.208
A	0.057	0.023	0.024	0.011	0.066	0.038	0.000	0.022	0.023	0.016	0.104
B	0.057	0.045	0.000	0.022	0.026	0.058	0.086	0.043	0.000	0.063	0.042
C	0.080	0.045	0.048	0.065	0.158	0.077	0.086	0.043	0.023	0.109	0.000
D	0.000	0.000	0.024	0.000	0.000	0.058	0.017	0.022	0.000	0.000	0.000
E	0.000	0.068	0.000	0.065	0.105	0.115	0.069	0.043	0.000	0.000	0.063
F	0.023	0.159	0.048	0.109	0.092	0.038	0.000	0.043	0.000	0.109	0.188
G	0.011	0.205	0.190	0.163	0.066	0.019	0.034	0.022	0.000	0.031	0.021
H	0.000	0.068	0.214	0.054	0.066	0.000	0.069	0.043	0.000	0.094	0.000
I	0.034	0.114	0.095	0.120	0.039	0.058	0.034	0.065	0.000	0.031	0.083
J	0.011	0.000	0.095	0.022	0.053	0.019	0.000	0.087	0.000	0.094	0.021
K	0.034	0.114	0.024	0.228	0.026	0.000	0.034	0.174	0.045	0.328	0.229
L	0.000	0.091	0.095	0.065	0.000	0.000	0.000	0.043	0.000	0.016	0.000
M	0.000	0.000	0.000	0.022	0.000	0.000	0.000	0.109	0.000	0.016	0.000
N	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
P	0.000	0.000	0.000	0.011	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Q	0.000	0.000	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
R	0.000	0.000	0.095	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Nº	44.000	22.000	21.000	46.000	38.000	26.000	29.000	23.000	22.000	32.000	24.000

Cuadro A8. Frecuencias alélicas del microsatélite D21S6 por grupo genético

	GUERRERO	DURANGO	HIREFORD	CHIHUAHUA	NAYARIT	BRAHMAN	GUZERAT	SUIZO	LECHERO	HOLSTEIN	INDIA
1	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 026	0 000	0 000
2	0 022	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000
3	0 011	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000
4	0 100	0 000	0 000	0 000	0 000	0 019	0 019	0 016	0 079	0 000	0 000
5	0 011	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 019	0 016	0 000	0 000	0 000
6	0 011	0 000	0 045	0 000	0 000	0 019	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000
7	0 033	0 000	0 091	0 000	0 149	0 077	0 019	0 047	0 000	0 078	0 000
8	0 011	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000
9	0 078	0 146	0 386	0 083	0 108	0 000	0 000	0 000	0 368	0 156	0 217
A	0 022	0 000	0 000	0 052	0 000	0 000	0 019	0 109	0 000	0 016	0 022
B	0 022	0 042	0 068	0 021	0 041	0 038	0 000	0 047	0 105	0 063	0 196
C	0 022	0 063	0 000	0 010	0 095	0 000	0 019	0 000	0 000	0 109	0 022
D	0 189	0 188	0 023	0 073	0 311	0 077	0 000	0 266	0 105	0 141	0 087
E	0 122	0 146	0 000	0 146	0 095	0 058	0 000	0 000	0 000	0 016	0 261
F	0 067	0 125	0 045	0 219	0 000	0 038	0 000	0 031	0 026	0 016	0 065
G	0 022	0 000	0 000	0 073	0 014	0 019	0 037	0 031	0 000	0 016	0 000
H	0 000	0 021	0 000	0 000	0 027	0 000	0 037	0 063	0 000	0 000	0 000
I	0 000	0 021	0 023	0 010	0 000	0 038	0 037	0 031	0 000	0 031	0 000
J	0 078	0 083	0 273	0 156	0 041	0 058	0 056	0 047	0 000	0 078	0 022
K	0 033	0 000	0 000	0 000	0 000	0 058	0 037	0 016	0 000	0 125	0 000
L	0 033	0 000	0 000	0 021	0 000	0 019	0 037	0 000	0 000	0 000	0 000
M	0 022	0 000	0 000	0 021	0 000	0 000	0 000	0 063	0 000	0 000	0 000
N	0 022	0 021	0 000	0 021	0 014	0 135	0 000	0 078	0 053	0 000	0 022
P	0 000	0 042	0 000	0 010	0 000	0 135	0 000	0 000	0 105	0 094	0 043
Q	0 011	0 083	0 000	0 000	0 000	0 135	0 130	0 078	0 026	0 000	0 000
R	0 000	0 021	0 023	0 073	0 108	0 038	0 204	0 031	0 079	0 000	0 000
S	0 056	0 000	0 000	0 010	0 000	0 000	0 259	0 031	0 000	0 031	0 000
T	0 000	0 000	0 023	0 000	0 000	0 038	0 074	0 000	0 000	0 000	0 043
U	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 000	0 026	0 031	0 000
Nº	45 000	24 000	22 000	48 000	37 000	26 000	27 000	32 000	19 000	32 000	23 000





Cuadro A10 Frecuencias Alélicas del gen de la Kappa Caseína en los 11 grupos genéticos

	GUERRE-RO	DURAN-GO	HERE-FORD	CHIHUA-HUA	NAYARIT	BRAH-MAN	GUZE-RAT	SUIZO	LECHE-RO	HOLS-TEIN	LIDIA
	40	30	22	44	38	28	32	30	30	44	32
A	0.788	0.65	0.818	0.591	0.684	0.929	0.922	0.483	0.483	0.875	0.937
B	0.213	0.35	0.182	0.409	0.316	0.071	0.078	0.517	0.517	0.125	0.063

Cuadro A.11. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D1S8 así como el número de cromosomas evaluados

GRUPO GENETICO	NUMERO DE CROMOSOMAS	PROMEDIO	DESVIACION ESTÁNDAR	MÍNIMO	MÁXIMO
GUERRERO	90	91,8	7,5	68	106
DURANGO	48	88,4	8,9	70	100
HEREFORD	46	92,3	6,4	72	102
CHIHUAHUA	72	95,0	6,7	72	108
NAYARIT	56	93,3	10,4	62	114
BRAHMAN	56	86,6	6,8	72	98
GUZERAT	60	90,4	7,1	80	104
SUIZO	50	94,0	7,9	74	104
LECHERO	34	96,6	8,3	74	108
HOLSTEIN	60	92,7	6,4	76	102
LIDIA	48	85,0	9,3	72	98
Total	620	91,5	8,4	62	114

Cuadro A.12. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D9S1 así como el número de cromosomas evaluados

GRUPO GENETICO	NUMERO DE CROMOSOMAS	PROMEDIO	DESVIACION ESTÁNDAR	MÍNIMO	MÁXIMO
GUERRERO	96	145,4	12,5	120	174
DURANGO	48	148,4	11,1	134	174
HEREFORD	48	147,0	5,8	134	160
CHIHUAHUA	98	147,7	7,3	134	164
NAYARIT	78	141,2	8,3	132	174
BRAHMAN	62	145,3	10,7	120	160
GUZERAT	64	150,3	8,9	120	158
SUIZO	64	149,4	8,4	134	170
LECHERO	44	136,5	10,6	122	158
HOLSTEIN	60	145,2	5,2	136	156
LIDIA	46	142,1	7,1	126	156
Total	708	145,6	9,7	120	174

Cuadro A13. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D18S5 así como el número de cromosomas evaluados

GRUPO GENETICO	NUMERO DE CROMOSOMAS	PROMEDIO	DESVIACION ESTÁNDAR	MÍNIMO	MÁXIMO
GUERRERO	94	178,9	4,9	154	184
DURANGO	48	177,1	5,1	168	194
HEREFORD	48	179,0	3,8	170	182
CHIHUAHUA	100	176,7	3,7	170	190
NAYARIT	76	174,7	3,3	162	184
BRAHMAN	62	180,4	5,3	172	200
GUZERAT	62	180,5	2,7	174	184
SUIZO	60	178,0	6,7	168	204
LECHERO	42	176,9	3,5	170	188
HOLSTEIN	56	175,4	2,0	172	184
LIDIA	42	177,1	3,3	174	188
Total	690	177,7	4,6	154	204

Cuadro A14. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D12S4 así como el número de cromosomas evaluados

GRUPO GENETICO	NUMERO DE CROMOSOMAS	PROMEDIO	DESVIACION ESTÁNDAR	MÍNIMO	MÁXIMO
GUERRERO	86	123,9	4,4	112	138
DURANGO	48	126,4	6,0	118	140
HEREFORD	46	123,0	4,6	114	140
CHIHUAHUA	64	125,2	7,0	112	142
NAYARIT	70	125,0	5,5	114	140
BRAHMAN	62	123,1	3,9	114	138
GUZERAT	60	124,8	6,0	114	142
SUIZO	64	128,3	6,7	122	144
LECHERO	46	126,7	8,0	108	140
HOLSTEIN	64	124,4	2,3	122	136
LIDIA	48	127,1	6,1	120	138
Total	658	125,2	5,8	108	144

Cuadro A15. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite BOLA.DRBP1 así como el número de cromosomas evaluados.

GRUPO GENETICO	NUMERO DE CROMOSOMAS	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	MÍNIMO	MÁXIMO
GUERRERO	94	130,1	8,1	116	142
DURANGO	48	124,2	8,2	114	144
HEREFORD	46	124,0	6,8	114	138
CHIHUAHUA	74	125,1	7,0	112	150
NAYARIT	70	124,9	7,2	112	152
BRAHMAN	52	134,7	9,4	120	154
GUZERAT	58	136,3	8,5	118	160
SUIZO	64	132,4	9,8	118	158
LECHERO	48	134,0	8,0	118	142
HOLSTEIN	62	126,4	10,2	116	160
LIDIA	46	122,3	7,0	118	148
Total	662	128,7	9,4	112	160

Cuadro A16. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D16S3 así como el número de cromosomas evaluados.

GRUPO GENETICO	NUMERO DE CROMOSOMAS	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	MÍNIMO	MÁXIMO
GUERRERO	94	162,2	9,4	140	184
DURANGO	48	172,2	15,8	142	200
HEREFORD	48	173,8	11,4	150	194
CHIHUAHUA	100	163,0	16,3	134	198
NAYARIT	68	165,2	9,5	154	198
BRAHMAN	62	160,0	12,1	138	186
GUZERAT	64	156,9	10,5	134	180
SUIZO	64	159,1	11,5	134	180
LECHERO	42	165,3	7,6	148	180
HOLSTEIN	64	162,8	7,6	150	184
LIDIA	48	156,6	5,7	138	174
Total	702	163,0	12,3	134	200

Cuadro A17. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D18S1 así como el número de cromosomas evaluados

GRUPO GENETICO	NUMERO DE CROMOSOMAS	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	MÍNIMO	MÁXIMO
GUERRERO	88	78,0	8,3	60	100
DURANGO	44	91,5	7,5	72	102
HEREFORD	42	95,0	8,5	78	114
CHIHUAHUA	92	94,0	7,0	74	112
NAYARIT	76	85,5	8,3	66	110
BRAHMAN	52	81,7	10,3	56	108
GUZERAT	58	80,2	9,2	68	100
SUIZO	46	90,1	11,4	70	104
LECHERO	44	74,7	6,7	66	100
HOLSTEIN	64	92,4	8,6	70	104
LIDIA	48	88,3	9,0	72	100
Total	654	86,4	10,8	56	114

Cuadro A18. Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D21S6 así como el número de cromosomas evaluados.

GRUPO GENETICO	NUMERO DE CROMOSOMAS	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	MÍNIMO	MÁXIMO
GUERRERO	90	151,3	12,4	124	178
DURANGO	48	154,6	10,0	142	176
HEREFORD	44	150,1	11,1	138	180
CHIHUAHUA	96	156,0	9,2	142	178
NAYARIT	74	151,4	10,5	140	176
BRAHMAN	52	162,2	12,6	134	180
GUZERAT	54	169,7	11,9	134	180
SUIZO	64	156,4	11,8	134	178
LECHERO	38	151,6	15,5	120	182
HOLSTEIN	64	154,5	12,0	140	182
LIDIA	46	151,0	9,6	142	180
Total	670	155,3	12,5	120	182

Cuadro A19 Tamaño mínimo, máximo, promedio aritmético y desviación estándar del microsatélite D5S1 así como el número de cromosomas evaluados

GRUPO GENETICO	NUMERO DE CROMOSOMAS	PROMEDIO	DESVIACION ESTÁNDAR	MINIMO	MÁXIMO
GUERRERO	92	192,5	7,9	170	206
DURANGO	46	197,2	6,9	178	210
HEREFORD	48	195,8	6,6	172	202
CHIHUAHUA	100	197,2	4,3	176	204
NAYARIT	78	197,1	4,7	184	214
BRAHMAN	62	189,6	8,0	178	202
GUZERAT	48	191,0	4,9	176	202
SUIZO	60	192,3	9,1	170	204
LECHERO	48	188,9	9,6	178	204
HOLSTEIN	60	193,1	9,5	172	202
LIDIA	46	190,1	11,5	170	202
Total	688	193,5	8,1	170	214