

**CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE OVINOS EN COLOMBIA POR MEDIO DE  
MARCADORES MICROSATÉLITES**

**Estudiante: Ricardo José Ocampo Gallego**

**Director: Henry Cardona Cadavid**

**Maestría en Ciencias Animales**

**Universidad de Antioquia  
2014**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al comité para el desarrollo de la investigación (CODI) y al grupo de investigación en Genética, Mejoramiento y Modelación Animal GAMMA de la Universidad de Antioquia por la financiación del proyecto de investigación. A Colciencias por la beca-pasantía Programa Jóvenes Investigadores e Innovadores de Colciencias de la cual fui beneficiario. A la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA por haberme facilitado sus instalaciones para realizar mis pruebas de laboratorio. Finalmente agradezco a todos los productores que participaron del proyecto de investigación por la enorme colaboración que me prestaron para la toma de muestras y ante todo por la muy amable atención que me brindaron durante la visita a las granjas ovinas.

## DEDICATORIA

### ***A mi Familia:***

Porque siempre me brindaron su apoyo incondicional y me han acompañado en todo este proceso.

## Tabla de contenido

1. Lista de tablas.....	5
2. Lista de figuras.....	6
3. Lista de abreviaturas.....	7
4. Resumen.....	8
5. Introducción general.....	10
6. Objetivos.....	13
6.1. Objetivo general.....	13
6.2. Objetivos Específicos.....	13
7. Marco Teórico.....	14
8. Cuerpo del trabajo.....	19
8.1. Resumen presentado al ENICIP:.....	19
8.2. Artículo para publicar:.....	21
8.2.1. Resumen.....	21
8.2.2. Abstract.....	22
8.2.3. Introducción.....	23
8.2.4. Materiales y Métodos.....	26
8.2.5. Resultados y Discusión.....	30
8.2.6. Conclusiones.....	38
9. Datos suplementarios.....	40
10. Referencias bibliográficas.....	45

## 1. Lista de tablas

**Tabla 1.** Panel de microsatélites utilizados. Pág. 27

**Tabla 2.** Número de alelos ( $N_a$ ), Número efectivo de alelos ( $N_e$ ), Heterocigocidad observada ( $H_o$ ), Heterocigocidad esperada ( $H_e$ ), Contenido de Información Polimórfica (CIP), Poder de Exclusión (PE), Poder de Exclusión Acumulado (PE Acum) y estadísticos F ( $F_{is}$ ,  $F_{it}$ ,  $F_{st}$ ) por locus. Pág. 31

**Tabla 3.** Número de individuos ( $N$ ), número promedio de alelos ( $N_a$ ), número efectivo de alelos ( $N_e$ ), Heterocigocidad observada ( $H_o$ ) y esperada ( $H_e$ ) y valor de  $F_{is}$  para cada una de las razas. Pág. 33

## 2. Lista de figuras

**Fig. 1.** Censo ovino en Colombia. ICA, 2012. Pág. 24

**Fig. 2.** Árbol filogenético (UPGMA) que representan las distancias genéticas estándar de Nei entre las 13 razas de ovinos. Pág. 35

**Fig. 3.** Estructura poblacional estimada con STRUCTURE de 13 ovinas en Colombia para valores de K de 2 hasta 5. Pág. 37

### 3. Lista de abreviaturas

BB	<i>Blackbelly</i>
CAM	<i>Camuro</i>
CIP	<i>Contenido de Información Polimórfico</i>
CRL	<i>Criollo de Lana</i>
CRRD	<i>Corriedale</i>
DP	<i>Dorper</i>
DS	<i>Dorset</i>
HAM	<i>Hampshire</i>
He	<i>Heterocigocidad Esperada</i>
Ho	<i>Heterocigocidad Observada</i>
KT	<i>Katahdin</i>
MORA	<i>Mora Colombiana</i>
N	<i>Número de individuos</i>
Na	<i>Número de alelos</i>
Ne	<i>Número efectivo de alelos</i>
PBY	<i>Pelibuey</i>
PCN	<i>Persa Cabeza Negra</i>
PE	<i>Poder de Exclusión</i>
PE Acum	<i>Poder de exclusión acumulado</i>
ROM	<i>Romney Marsh</i>
STI	<i>Santa Inés</i>

#### 4. Resumen

En Colombia los sistemas de producción ovina se manejan en condiciones extensivas y corresponden principalmente a sistemas de producción campesina por lo que su manejo genético ha llevado al incremento de la homocigosis y por ende a la pérdida de la productividad. El objetivo de este estudio fue determinar la diversidad genética en 13 razas ovinas presentes en Colombia, utilizando un panel de 11 marcadores moleculares microsatélites. Para ello se visitaron 56 granjas localizadas en 11 departamentos del territorio nacional en las cuales se tomaron muestras de sangre de 549 individuos, que fueron genotipadas y analizadas. Un total de 157 alelos fueron encontrados (promedio de 14,27 alelos/locus), con un rango de heterocigocidad observada y esperada de 0,444 a 0,840 y 0,672 a 0,857, respectivamente y un Contenido de Información Polimórfica (CIP) promedio de 0,741. El Poder de Exclusión (PE) de los 11 loci en conjunto fue superior al 99,99%. Treinta y tres de 143 pruebas de equilibrio de Hardy Weinberg realizadas mostraron desvíos significativos ( $p < 0,05$ ) debido a un déficit generalizado de individuos heterocigotos en las razas. El  $F_{is}$  promedio de las 13 razas fue de 0,078, variando entre 0,009 para la raza CRRD y 0,145 para la raza PCN, lo cual sugiere que entre las razas se presentan niveles bajos a moderados de consanguinidad. Las ovejas colombianas presentaron un bajo grado de diferenciación genética entre las distintas razas ( $F_{st} = 0,039$ ) y el análisis de STRUCTURE mostró complejos patrones de mezcla en todas las razas estudiadas. En términos generales las ovejas colombianas presentaron una alta variabilidad genética lo cual es muy importante para futuros programas de selección y mejoramiento genético. Sin embargo, se sugiere implementar estrategias de manejo adecuadas en los animales, dirigidas a minimizar la endogamia para evitar la pérdida de la variabilidad genética.

**Palabras clave:** ADN, diversidad genética, microsatélites, oveja colombiana.

## **Abstract**

In Colombia the sheep production systems are managed under extensive conditions and mainly correspond to peasant production systems so their genetic management has led to increased homozygosity and hence productivity loss. The aim of this study was to determine the genetic diversity in 13 sheep breeds present in Colombia, using a panel of 11 microsatellite molecular markers. Fifty six farms located in 11 departments of the country were visited and blood samples from 549 individuals were taken, genotyped and analyzed. A total of 157 alleles were found (average of 14.27 alleles/locus), with a range of observed and expected heterozygosity from 0.444 to 0.840 and 0.672 to 0.857 respectively and an average Polymorphic Information Content (PIC) of 0.741. The Power of Exclusion (PE) of the 11 loci together was higher than 99.99%. Thirty-three of 143 Hardy Weinberg tests performed showed significant deviations ( $p < 0.05$ ) due to a general lack of heterozygous individuals in the breeds. The  $F_{is}$  average of the 13 breeds was 0.078, ranging from 0.009 for the CRRD breed to 0.145 for the PCN breed, suggesting that between breeds are presenting low to moderate levels of inbreeding. Colombian sheep showed a low degree of genetic differentiation between breeds ( $F_{st} = 0.039$ ) and STRUCTURE analysis showed complex mixing patterns in all breeds studied. Overall Colombian sheep showed high genetic variability which is very important for future selection and animal breeding programs. However, it is suggested that implementing appropriate management strategies in the animals, could minimize the inbreeding in order to prevent the loss of genetic variability.

**Keywords:** DNA, genetic diversity, microsatellite, Colombian sheep.

## 5. Introducción general

La oveja (*Ovis aries*) es uno de los animales domésticos de más amplia distribución geográfica, debido a su extraordinaria capacidad de adaptación a diferentes condiciones de clima, vegetación y manejo. Su domesticación se inició en Europa y fue probablemente una de las primeras especies de ganado en ser domesticadas en el mundo, hace unos 9000 años (De la Barra et al., 2010).

La cría de ovejas u ovinocultura es una buena alternativa de producción agropecuaria en el país, debido a la suma de cualidades que tiene la especie y las posibilidades geográficas colombianas que la hacen viable, además de las condiciones favorables que presenta el mercado debido a su creciente demanda; esta situación convierte a los ovinos en una de las especies con más perspectiva de desarrollo en el área pecuaria en Colombia (Barrios, 2005).

Para el año de 2012, según el censo realizado por el instituto Colombiano Agropecuario ICA, el inventario ovino nacional se estimó en 1.142.893 animales, los cuales se encuentran distribuidos a lo largo de todo el territorio nacional. Sin embargo hay departamentos con una mayor actividad en lo que a ovinocultura se refiere destacándose los departamentos de la Guajira, Magdalena, Córdoba, Cesar y Santander, los cuales concentran alrededor del 80% del inventario ovino nacional.

Pese a esto, la producción ovina en Colombia se ha caracterizado por un bajo uso de insumos y un bajo nivel tecnológico en todas las aéreas productivas y generalmente, está asociada a sistemas tradicionales y artesanales de producción. Estos sistemas atienden principalmente el consumo interno de las granjas y el comercio local, por lo que son poco importantes en su aporte al producto interno bruto, pero tienen gran impacto en la economía y alimentación campesina (Espinal et al., 2006).

Aunque en el país la cadena de ovinos es relativamente joven en comparación con cadenas de más trayectoria institucional, se presenta la necesidad de plantear programas de mejoramiento genético que cumplan con las necesidades del productor mejorando los índices en los parámetros productivos y reproductivos para

obtener un producto de mayor calidad y así poder competir con los mercados internacionales (Espinal et al., 2006).

Como parte de la política de mejoramiento genético en animales, está la caracterización genética de los individuos que permite identificar relaciones de parentescos y determinar la estructura genética poblacional. En la actualidad se desconoce la diversidad genética de los ovinos colombianos, y se estima que la población pura de ovinos criollos ha disminuido considerablemente debido al cruzamiento indiscriminado con razas importadas y la absorción con razas europeas, presumiendo además altos niveles de consanguinidad (baja variabilidad genética) lo que constituye un aspecto no deseable en la producción (Martínez y Vásquez, 2005).

Por lo anterior es necesario generar un banco de información basado en registros confiables que contengan datos detallados de composición racial, diversidad genética, genealogía, producción, información sanitaria y reproductiva, etc, con el fin de que los productores e investigadores puedan utilizar estos datos en estudios de conservación y en el desarrollo de planes de mejoramiento genético para la explotación y manejo de estas razas (Cheng et al., 2008), más si se tiene en cuenta que en el país es muy escasa la información de este tipo para el ganado ovino.

Para tener éxito en el manejo de esta variabilidad y en los parámetros de producción en ovinos, es necesario implementar pruebas precisas basadas en marcadores de ADN que identifiquen los individuos y que certifiquen el origen filial de los mismos con el fin de disponer de un registro fiable de sus genealogías. Los marcadores moleculares usados para estos análisis de variabilidad genética deben ser lo suficientemente informativos y deben permitir discriminar poblaciones entre sí e individuos dentro de la población (Baumung et al., 2006). Los marcadores moleculares más usados en la actualidad para evaluar los anteriores parámetros son los microsatélites o STR's debido a su alto polimorfismo, herencia codominante, frecuencia abundante en el genoma, comportamiento selectivamente neutral, fácil acceso y alta reproducibilidad (Dodgson et al., 1997).

A pesar de que en países como España, Italia, Irán, Chile, etc se han realizado numerosos estudios de diversidad genética en sus poblaciones ovinas utilizando

marcadores moleculares microsatélites, es de resaltar que en Colombia no existen estudios sobre la diversidad genética, los grados de estructuración genética y de introgresión con razas foráneas. Todo esto indica, que en Colombia hay un gran potencial para trabajar en el sector de la ovinocultura, y teniendo un mayor conocimiento de la estructura genética de estas razas ovinas, se podrá identificar los parentescos entre los animales evaluados, consolidando así el registro genealógico soportado por la información genética de cada individuo, y de esta manera poder cumplir con los requisitos de trazabilidad y competir en el mercado internacional.

Es por esto que es necesario hacer investigaciones de este tipo que fomenten no solo el conocimiento sino también la conservación de la diversidad genética de los ovinos colombianos. Este es un proceso largo, pero es necesario comenzar a realizarlo y para ello es indispensable el apoyo de instituciones gubernamentales, las universidades y productores asociados.

## **6. Objetivos**

### **6.1. Objetivo general**

- Determinar la diversidad genética de las poblaciones ovinas colombianas mediante el uso de marcadores moleculares microsatélites.

### **6.2. Objetivos Específicos**

- Determinar los niveles de endogamia en las poblaciones ovinas colombianas.
- Evaluar el número mínimo de marcadores moleculares para obtener un poder de exclusión mínimo del 99.9%.
- Crear un banco de germoplasma para un posterior análisis genómico de las ovejas.

## 7. Marco Teórico

La oveja (*Ovis aries*) ha sido una de las especies de animales de granja económicamente y culturalmente más importantes desde su domesticación en el cercano oriente aproximadamente 9.000 años A.C (Peters et al., 2004).

Todas las especies utilizadas para la alimentación y la agricultura son el resultado de la domesticación de especies progenitoras salvajes, las cuales han estado evolucionando continuamente a una tasa acelerada debido a las actividades de selección humanas. Por ser un animal doméstico de miles de años de antigüedad, existen en el mundo gran cantidad de razas ovinas con gran variación en cuanto a las características y aptitudes para las más diversas producciones las cuales se han adaptado a una gran variedad de ambientes y han sido utilizadas para producir diversos tipos de alimentos y productos agrícolas (Scintu y Piredda, 2007).

El ganado ovino es uno de los mejores medios para revalorizar importantes áreas del territorio nacional y mundial, debido a que este tipo de ganado se destaca por una serie de características que le hacen insustituible, y entre ellas cabe remarcar varios aportes de índole económico y social que este ganado ofrece (Espinal., et al 2006) :

- Aprovecha para su alimentación básica, una serie de recursos herbáceos y de subproductos agrícolas que pueden sustituir el uso de concentrados en su alimentación.
- Debido a su reducida dimensión corporal se adapta mucho mejor que el ganado vacuno a áreas poco productoras (semiáridas, de poca pluviosidad, zonas de topografía accidentada, etc).
- La oveja, en general, se puede considerar como una especie cosmopolita y de fácil manejo que se adapta relativamente bien a condiciones climáticas muy diversas.

- Por sus características de pastoreo (en general gregario) y por su capacidad para consumir algunos subproductos agrícolas, la oveja se complementa muy bien con ciertas explotaciones agrícolas (especialmente la de cereales).
- Del ganado ovino se pueden extraer múltiples productos (carne, leche, lana y piel), siendo fuente de alimentos tradicionales de gran calidad.
- Como ganadería de ocupación de áreas desfavorecidas induce el asentamiento de familias en zonas donde frecuentemente la única alternativa es la producción de la ganadería ovina y/o caprina.

No obstante, a pesar de todas estas realidades, el ganado ovino no ocupa el lugar que, desde una visión objetiva, le correspondería y que hacía presagiar su evolución en la antigüedad (Buxade, 1996).

En la actualidad el inventario ovino en el mundo está fuertemente influenciado por dos factores importantes como son el desarrollo tecnológico que permite tener un avance importante en el incremento del inventario de este ganado como es el caso de Australia y Nueva Zelanda que entre los dos poseen el 13% del inventario de este ganado en el mundo (Espinal et al., 2006). El otro factor importante es la tradición de consumo de estas especies debido a que por tendencias culturales la vaca es considerada como animal sagrado como en el caso de India y el cerdo es considerado como un animal impuro en los países que profesan la religión judía y musulmana (Espinal et al., 2006).

El país con mayor número de animales ovinos en su inventario es China, que posee cerca del 16% del inventario mundial con 170.882.215 cabezas para el año del 2006. Colombia está ubicada en el puesto 63 con un total de 2.180.000 animales para este mismo año según la FAO (Espinal et al., 2006). El inventario colombiano está constituido principalmente por ejemplares criollos (moro colombiano, criollos de lana y pelo) y sus cruces con ejemplares de razas foráneas (Corriedale, Romney, Katahdin, Pelibuey, etc) los cuales son traídos principalmente de Europa (Martínez y Vásquez, 2005).

En nuestro país la cadena de ovinos es relativamente joven en comparación con cadenas de más trayectoria institucional como lo puede ser la bovina. La producción ovina y caprina en el país se distribuye de manera atomizada en todos los departamentos, sin embargo hay zonas descritas con mayor actividad productiva como lo son la costa Atlántica, Antioquia, Boyacá y el eje cafetero, los cuales poseen una participación importante dentro del total nacional. Aunque la oveja en el sector productivo regional y nacional se ha ido posicionando poco a poco debido a la calidad de sus productos, en nuestro país aún los esfuerzos y recursos para avanzar y mejorar este sector son escasos (Espinal et al., 2006).

En Colombia, el sector ovino se ha caracterizado por un manejo inadecuado de las razas, identificando éstas fenotípicamente y de la misma manera tratando de identificar a los descendientes de los mejores reproductores. Esto se convierte en una problemática para la economía del sector ya que no hay precisión en los datos, ni confiabilidad en la escogencia de los animales para una evaluación genética y una mejor producción de cada granja, por lo que existe mucho potencial para un mejoramiento genético (Martínez y Vásquez, 2005).

La intensificación en los sistemas de producción ovina debe estar acompañada por un acelerado desarrollo en los sistemas de registro para evaluaciones genéticas. Los registros promueven el eficiente diagnóstico de fincas, aumentan la confiabilidad en la escogencia de animales para la producción, además, incrementan el valor comercial de los animales y permiten la trazabilidad y su venta confiable. En este aspecto, los animales deben ser identificados y registrados individualmente para evitar errores en las bases de datos y aumentar la confiabilidad de los resultados (Wismans y Akkerman, 2001).

La consolidación del sistema de registro se puede optimizar mediante el uso de técnicas moleculares que permiten caracterizar poblaciones, determinar parentesco entre animales e identificar individuos portadores de variantes genéticas asociadas a mayor producción, resistencia a enfermedades o portadores de variantes deletéreas (Muigai et al., 2009).

Una de las técnicas más utilizadas para realizar este tipo de análisis es el estudio de polimorfismos del ADN por medio de la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) (Mullis y Faloona, 1987), que consiste en la amplificación in Vitro de fragmentos de DNA específicos. La PCR es la técnica más aplicada para el estudio de loci altamente polimórficos como son los STRs (Short Tandem Repeats) o microsatélites, que constituyen regiones de ADN repetitivo de dos a siete pares de bases repetidas una a continuación de la otra, por lo que se les conoce como di, tri o tetranucleotídicas y suponen una fuente de marcadores de gran valor, debido a su abundancia a lo largo de los genomas eucariotes, a su naturaleza altamente variable, es decir, polimórficas (Baumung et al., 2004) y su amplificación relativamente sencilla por medio de la PCR.

Estos generan un patrón de fragmentos de ADN, que son específicos para cada individuo, los cuales están integrados por las combinaciones provenientes del linaje paterno y materno. En la actualidad se dispone de una cantidad de marcadores STRs, que han sido utilizados en diferentes poblaciones ovinas de todo el mundo y han mostrado tener un alto polimorfismo. (Baudouin et al., 2004; Maudet et al., 2002).

Los análisis por medio de marcadores moleculares microsatélites también pueden ser usados para monitorear la estructura genética de las poblaciones y detectar cambios en la frecuencia de los genes debido a endogamia, flujo génico y deriva genética, lo cual hace posible preservar la diversidad biológica de los animales domésticos debido a que el uso de programas de reproducción asistida, tales como la inseminación artificial y la transferencia de embriones pueden reducir rápidamente la variabilidad genética de las poblaciones (Rosa et al., 2013).

Aunque en otros países se han realizado numerosos estudios de caracterización genética en ovinos utilizando marcadores moleculares microsatélites (Dalvit et al., 2008; Ligda et al., 2009; Arora et al., 2011), en Colombia hasta el momento no se encuentran reportes de este tipo de estudio en este ganado. Todo esto indica, que en nuestro país hay un gran potencial para trabajar en el sector de la ovinocultura, y teniendo un mayor conocimiento de la estructura genética de estas razas ovinas, se

podrá identificar los parentescos entre los animales evaluados y así consolidar el registro genealógico soportado por la información genética de cada individuo.

## 8. Cuerpo del trabajo

El presente trabajo de investigación aportó varios productos. El primero de ellos, se formuló con unos resultados preliminares. Se escribió un resumen que fue presentado al Comité del XII Encuentro Nacional y V internacional de Investigadores de las Ciencias Pecuarias, ENICIP, 2013. El segundo producto corresponde a un artículo para publicar que incluye los resultados finales del trabajo. A continuación se dará cuenta de cada uno de ellos:

### 8.1. Resumen presentado al ENICIP:

#### **Caracterización genética de ovinos en Colombia**

*Genetic characterization of sheep in Colombia*

Ricardo Ocampo Gallego<sup>1</sup>, Biol, MSc; Henry Cardona Cadavid<sup>1</sup>, Zoot, MSc, Dr; Mario Cerón Muñoz<sup>1</sup>, Zoot, MSc, Dr

*\*Proyecto “Caracterización genética de ovinos en Colombia por medio de marcadores microsatélites” financiado por CODI Universidad de Antioquia (Código 2012-5019) y CODI-UdeA Sostenibilidad 2011-2012. <sup>1</sup>Grupo de investigación en Genética, Mejoramiento y Modelación Animal (GaMMA), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.*

E-mail: [ricardo.ocampo23@gmail.com](mailto:ricardo.ocampo23@gmail.com)

**Antecedentes:** La ovinocultura es una buena alternativa de producción agropecuaria debido a la suma de cualidades que tiene la especie y las condiciones favorables que presenta el mercado debido a su creciente demanda; esta situación convierte a los ovinos en una de las especies con más perspectiva en Colombia. Actualmente la diversidad genética en los ovinos colombianos es desconocida y además se presumen altos niveles de consanguinidad por la poca utilización de registros genealógicos y al uso de reproductores nacidos en la misma granja. Por esto es necesario implementar pruebas precisas basadas en marcadores de ADN para la caracterización de su diversidad genética y estimar los niveles de consanguinidad de las poblaciones. **Objetivo:** Determinar la diversidad génica y genotípica de las poblaciones ovinas colombianas a través de marcadores moleculares microsatélites. **Métodos:** En una muestra de 549 ovinos se amplificará por PCR un panel de 11 microsatélites (recomendados por la FAO). Para determinar la variabilidad genética se analizarán parámetros como la endogamia (Fis y Fit), la estructuración genética (Fst), la heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He), el número promedio de alelos (NPA) y el contenido de información polimórfica (CIP). También se realizarán pruebas de equilibrio de Hardy-Weimber (EHW) y se estimará el poder de exclusión (PE) de cada marcador para realizar pruebas de filiación. **Resultados:** Se visitaron 56 fincas en los departamentos de Antioquia, Boyacá, Caldas, Cesar, Córdoba, Guajira, Magdalena, Risaralda, Santander, Sucre y

Valle del Cauca. Se seleccionaron 549 individuos de las razas criollas, además de las razas foráneas Katahdin, Dorper, Pelibuey, Santa Inés, Dorset, Hampshire, Corriedale. A cada individuo se le extrajo el ADN con un kit comercial a partir de una muestra de sangre (7ml), obteniéndose una concentración promedio de ADN de 120,16 ng/ $\mu$ l (D.S= 73.10) y pureza promedio de 1,87 (Absorbancia 260/280). Las condiciones de PCR para cada microsatélite fueron estandarizados con 5 animales criollos. Todos los marcadores mostraron ser polimórficos. Próximamente se realizará la genotipificación de todos los animales y sus respectivos análisis genéticos. **Conclusiones:** Los resultados de este proyecto generarán nuevo conocimiento entorno a la diversidad genética de los ovinos en el país.

**Palabras clave:** *ADN, diversidad genética, oveja criolla, STR.*

**Key words:** *creole sheep, DNA, genetic diversity, STR.*

**8.2. Artículo para publicar:**

**DIVERSIDAD GENÉTICA DE OVINOS EN COLOMBIA POR MEDIO DE  
MARCADORES MICROSATÉLITES**

**Genetic diversity of sheep in Colombia by microsatellite markers**

R. Ocampo<sup>a,\*</sup>, H. Cardona<sup>a</sup>, R. Martinez<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Producción Agropecuaria,  
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>b</sup> Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA, Mosquera,  
Cundinamarca.

\* Autor para Correspondencia: Cra 75 # 65-87, Bloque 47, oficina 231. Facultad de  
Ciencias Agrarias. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Tel: +57  
3113858087. Email: [ricardo.ocampo23@gmail.com](mailto:ricardo.ocampo23@gmail.com)

**8.2.1. Resumen**

En Colombia los sistemas de producción ovina se manejan en condiciones extensivas y corresponden principalmente a sistemas de producción campesina por lo que su manejo genético ha llevado a incremento de la homocigosis y por ende la pérdida de la productividad. El objetivo de este estudio fue determinar la diversidad genética en 13 razas ovinas presentes en Colombia, utilizando un panel de 11 marcadores moleculares microsatélites. Para ello se visitaron 56 granjas localizadas en 11 departamentos del territorio nacional en las cuales se tomaron muestras de sangre de 549 individuos, que fueron genotipadas y analizadas. Un total de 157

alelos fueron encontrados (promedio de 14,27 alelos/locus), con un rango de heterocigocidad observada y esperada de 0,444 a 0,840 y 0,672 a 0,857, respectivamente y un Contenido de Información Polimórfica (CIP) promedio de 0,741. El Poder de Exclusión (PE) de los 11 loci en conjunto fue superior al 99,99%. Treinta y tres de 143 pruebas de equilibrio de Hardy Weinberg realizadas mostraron desvíos significativos ( $p < 0,05$ ) debido a un déficit generalizado de individuos heterocigotos en las razas. El  $F_{is}$  promedio de las 13 razas fue de 0,078, variando entre 0,009 para la raza CRRD y 0,145 para la raza PCN, lo cual sugiere que entre las razas se presentan niveles bajos a moderados de consanguinidad. Las ovejas colombianas presentaron un bajo grado de diferenciación genética entre las distintas razas ( $F_{st} = 0,039$ ) y el análisis de STRUCTURE mostró complejos patrones de mezcla en todas las razas estudiadas. En términos generales las ovejas colombianas presentaron una alta variabilidad genética lo cual es muy importante para futuros programas de selección y mejoramiento genético. Sin embargo, se sugiere implementar estrategias de manejo adecuadas en los animales, dirigidas a minimizar la endogamia para evitar la pérdida de la variabilidad genética.

**Palabras clave:** ADN, diversidad Genética, Microsatélites, Oveja Colombiana.

### 8.2.2. Abstract

In Colombia the sheep production systems are managed under extensive conditions and mainly correspond to peasant production systems so their genetic management has led to increased homozygosity and hence productivity loss. The aim of this study was to determine the genetic diversity in 13 sheep breeds present in Colombia, using a panel of 11 microsatellite molecular markers. Fifty six farms located in 11 departments of the country were visited and blood samples from 549 individuals were taken, genotyped and analyzed. A total of 157 alleles were found (average of 14.27 alleles/locus), with a range of observed and expected heterozygosity from 0.444 to 0.840 and 0.672 to 0.857 respectively and an average Polymorphic Information Content (PIC) of 0.741. The Power of Exclusion (PE) of the 11 loci together was higher than 99.99%. Thirty-three of 143 Hardy Weinberg tests performed showed significant deviations ( $p < 0.05$ ) due to a general lack of heterozygous individuals in the breeds. The  $F_{is}$  average of the 13 breeds was 0.078, ranging from 0.009 for the

CRRD breed to 0.145 for the PCN breed, suggesting that between breeds are presenting low to moderate levels of inbreeding. Colombian sheep showed a low degree of genetic differentiation between breeds ( $F_{st} = 0.039$ ) and STRUCTURE analysis showed complex mixing patterns in all breeds studied. Overall Colombian sheep showed high genetic variability which is very important for future selection and animal breeding programs. However, it is suggested that implementing appropriate management strategies in the animals, could minimize the inbreeding in order to prevent the loss of genetic variability.

**Keywords:** DNA, genetic diversity, microsatellite, Colombian sheep.

### 8.2.3. Introducción

La oveja fue una de las primeras especies de ganado en ser domesticada, la cual tuvo su origen hace 9000 años aproximadamente. Se propone que la oveja se originó a partir de al menos tres subespecies ancestrales de muflón salvaje, tal y como se infiere de múltiples linajes mitocondriales (Guo et al., 2005; Cheng et al., 2006; Chessa et al., 2009). Más tarde, con la migración humana, el cambio climático, y la selección para diferentes propósitos, más de 2.455 razas ovinas se han desarrollado en todo el mundo hoy en día (DAD-IS, 2014).

Según el inventario ovino más reciente realizado por la Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) en el año de 2012 el país cuenta con una población total de 1.142.893 ovinos, los cuales se encuentran distribuidos a lo largo de todo el territorio nacional. Sin embargo hay departamentos con una mayor actividad en lo que a ovinocultura se refiere destacándose los departamentos de la Guajira, Magdalena, Córdoba, Cesar y Santander, los cuales concentran alrededor del 80% del inventario ovino nacional (Fig. 1).

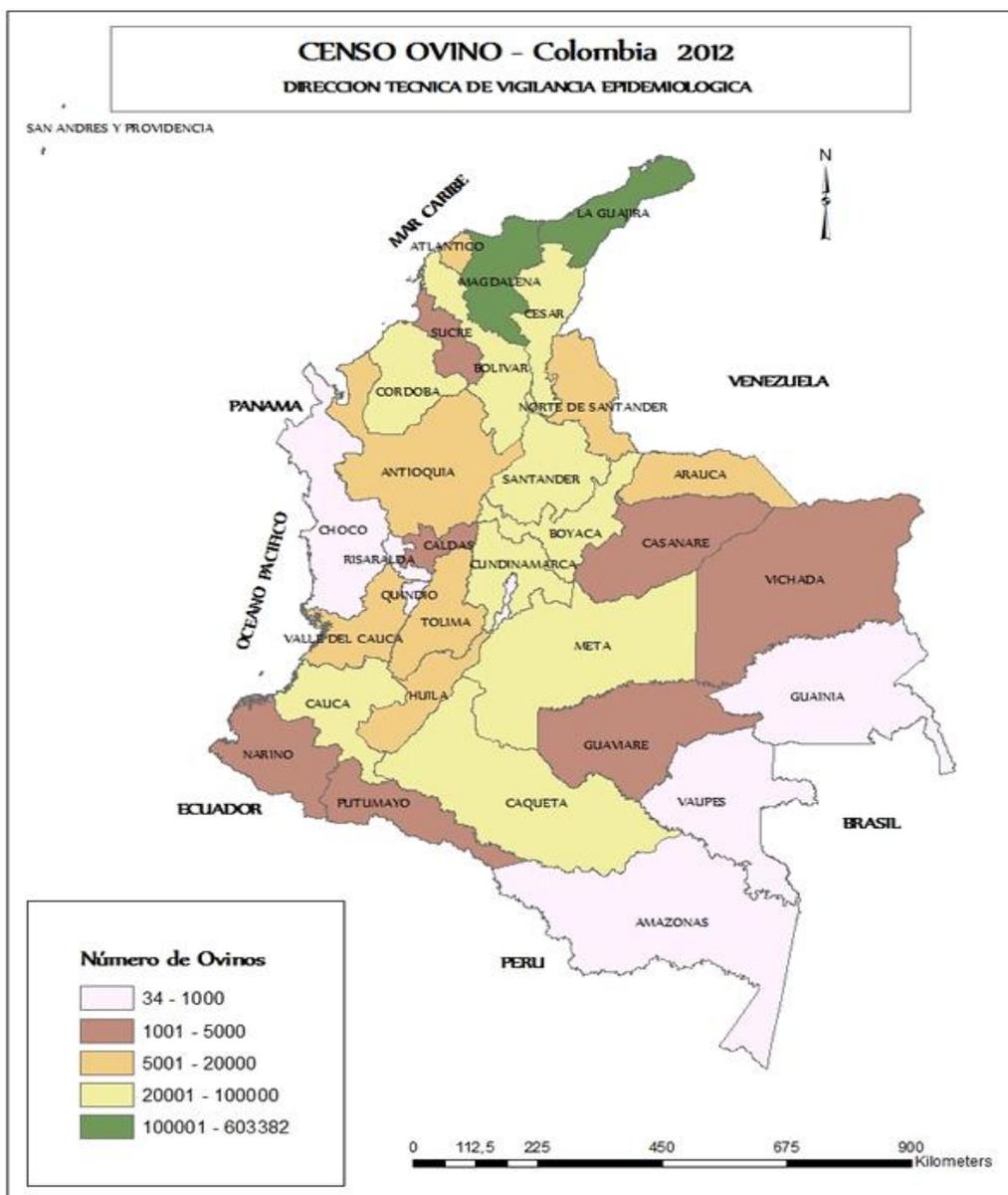


Fig. 1. Censo ovino en Colombia. ICA, 2012.

La base genética de los ovinos colombianos está constituida principalmente por animales criollos de lana los cuales son de descendencia europea y animales criollos de pelo (conocidos vulgarmente como “camuros”) los cuales son de descendencia Africana. Estos animales criollos fueron introducidos al país hace 500 años aproximadamente durante la época de la conquista, periodo de tiempo en el cual se han adaptado a las inhóspitas condiciones del trópico colombiano y se han caracterizado por ser animales rústicos, prolíficos y resistentes a ecto y endoparásitos (Delgado et al., 2009).

En Colombia también se pueden encontrar animales foráneos traídos principalmente de Europa y otros países de América entre los que se pueden mencionar las razas Katahdin, Santa Inés, Pelibuey, Dorset, Dorper, Hampshire, etc., los cuales son utilizados por poseer mejores rendimientos productivos en comparación con nuestros animales criollos, pero no poseen la misma capacidad de adaptación a las condiciones del trópico (Egito et al., 2002).

La globalización de los sistemas de producción y la competencia entre razas a llevado a la desaparición de muchas razas autóctonas en el mundo (Tapio et al., 2010). La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (FAO) ha estimado que el 36% de las razas de ovejas conocidas en el mundo están en peligro o se han extinguido (FAO, 2011).

De otro lado, el uso de unos pocos machos de genética superior para el apareamiento intensivo se traduce en la reducción del tamaño efectivo poblacional, incrementos en los niveles de consanguinidad de las poblaciones y finalmente la reducción de la variabilidad genética dentro de las razas, la cual es muy importante mantener a través de las generaciones, ya que sin ella se podría limitar las opciones para la reproducción y mejoramiento genético en la medida en que las impredecibles necesidades futuras no puedan ser satisfechas (Kantanen et al., 1999; Li, 2007).

La reciente concientización por la conservación de los recursos genéticos ha animado a llevar a cabo estudios de diversidad genética en diferentes razas y especies de ganado (Sodhi et al., 2006). Varios estudios han utilizado con éxito marcadores moleculares microsatélites en la caracterización de la variabilidad genética entre las distintas razas y especies de ganado (Arora et al., 2010; Baumung et al., 2006; Cheng et al., 2008; Dixit et al., 2012; Kugonza et al., 2011; Li et al., 2000; Souza et al., 2012; Sollero et al., 2009) y se debe a que este tipo de marcadores poseen alto polimorfismo, herencia codominante, frecuencia abundante en el genoma, comportamiento selectivamente neutral, fácil acceso y alta reproducibilidad (Dodgson et al., 1997).

El objetivo de este estudio fue determinar la variabilidad genética de las poblaciones ovinas colombianas utilizando un panel de 11 marcadores moleculares microsatélite, para poder utilizar esta información en planes de conservación y mejoramiento de las razas ovinas del país.

#### **8.2.4. Materiales y Métodos.**

##### *8.2.4.1. Muestreo*

Se colectaron muestras de sangre fresca a 549 individuos lo menos emparentados posibles de 13 razas: Blackbelly (BB), Camuro (CAM), Corriedale (CRRD), Criollo de Lana (CRL), Dorper (DP), Dorset (DS), Hampshire (HAM), Katahdin (KT), Mora Colombiana (MORA), Pelibuey (PBY), Persa cabeza negra (PCN), Romney Marsh (ROM) y Santa Inés (STI). Las muestras fueron tomadas en 56 granjas localizadas en 11 departamentos del país (Antioquia, Boyacá, Caldas, Cesar, Córdoba, La Guajira, Magdalena, Risaralda, Santander, Sucre y Valle del Cauca) (Tabla S-1). Cada una de las muestras fue tomada según las recomendaciones realizadas por el MoDAD (FAO, 1996).

##### *8.2.4.2. Extracción de ADN y genotipificación*

El ADN genómico de todas de las muestras fue extraído a partir de los glóbulos blancos utilizando el kit comercial MOBIO (Ultra Clean DNA Blood Isolation Kit, Calalog # 12000-100, California, USA). A cada una de las muestras se le cuantificó su concentración y pureza con un espectrofotómetro Nanodrop 2000 (Thermo Scientific).

Todos los microsatélites utilizados en este estudio hacen parte del panel de marcadores recomendados por la ISAG/FAO para realizar estudios de variabilidad genética en ovinos (disponible en: <http://www.fao.org/docrep/014/i2413e/i2413e00.pdf>). Dichos marcadores fueron seleccionados teniendo en cuenta el nivel de polimorfismo detectado previamente en otros estudios y la localización en distintos cromosomas.

En este trabajo se utilizaron un total de once marcadores moleculares microsatélite, que fueron amplificados por la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (Tabla 1). La secuencia reverse de cada primer estaba marcada con fluorocromos (6-FAM, VIC, NED) en su extremo 5'.

**Tabla 1.** Panel de microsatélites utilizados.

<b>Microsatélite</b>	<b>Cromosoma</b>	<b>Secuencia del Primer (5'-3')</b>	<b>Rango</b>	<b>Acceso</b>
<b>SRCRSP 9</b>	3	F: TCCAGATTTTGTACCAGACC R: GTCATGTCATACCTTTGAGC	107-133	L37211
<b>MCM 140</b>	6	F: GTTCGTACTIONCTGGGTACTIONGGTCTC R: GTCCATGGATTTGCAGAGTCAG	169- 193	L38979
<b>ILSTS 11</b>	9	F: GCTTGCTACATGGAAAGTGC R: CTAAAATGCAGAGCCCTACC	262-292	L23485
<b>SRCRSP 5</b>	18	F: GGACTCTACCAACTGAGCTACAAG R:GTTTCTTTGAAATGAAGCTAAAGCAATGC	128-156	L22197
<b>OarCB226</b>	2	F: CTATATGTTGCCTTTCCCTTCCTGC R: GTGAGTCCCATAGAGCATAAGCTC	115-159	L20006
<b>MAF 33</b>	9	F: GATCTTTGTTTCAATCTATTCCAATTTT R: GATCATCTGAGTGTGAGTATATACAG	117-143	M77200
<b>MAF 214</b>	16	F: GGGTGATCTTAGGGAGGTTTTGGAGG R: AATGCAGGAGATCTGAGGCAGGGACG	178-224	M88160
<b>BM1824</b>	1	F: GAGCAAGGTGTTTTTCCAATC R: CATTCTCCAACCTGCTTCCTTG	165-189	G18422
<b>ILSTS 28</b>	3	F: TCCAGATTTTGTACCAGACC R: GTCATGTCATACCTTTGAGC	117-167	L37211
<b>ILSTS 5</b>	7	F: GGAAGCAATGAAATCTATAGCC R: TGTTCTGTGAGTTTGTAAGC	176-214	L23481
<b>SRCRSP 1</b>	13	F: TGCAAGAAGTTTTTCCAGAGC R: ACCCTGGTTTCACAAAAGG	116-144	L22192

Los marcadores microsatélites fueron agrupados en dos multiplex para su amplificación, teniendo cuidado de evitar solapamientos entre los productos de amplificación.

El volumen final de la mix de PCR fue de 10  $\mu$ l el cual contenía Buffer de PCR 1X, 0,2 mM de cada uno de los DNTPs, 0,2  $\mu$ M de cada primer, 1,85 U de Taq Hot Start polimerasa (ABM), 1,5 mM de  $MgCl_2$ , 1,14  $\mu$ l de GC Enhancer (Applied Biosystems), 1  $\mu$ l de ADN (~120 ng) y agua miliQ hasta ajustar el volumen final.

La amplificación de los microsatélites se realizó en un termociclador PTC 100 (Mj Research) utilizando el siguiente perfil térmico: Denaturalización inicial a 95°C por 5 minutos, seguido por 35 ciclos de 1,15 minutos a 95°C, 45 segundos a 55°C y 1 minuto a 72°C. La extensión final de 10 minutos a 72°C.

Los productos amplificados generados por la PCR fueron analizados mediante electroforesis capilar utilizando un secuenciador ABI 310 (Applied Biosystems). Para los análisis se utilizó el marcador interno de tamaño LIZ 500 (500 pb) y se utilizó el programa GENEMAPPER 4.1 para determinar el tamaño alélico de cada una de las 549 muestras analizadas.

#### *8.2.4.3. Análisis estadístico*

Las frecuencias alélicas para todos los loci, el número de alelos observado (NA) y efectivo (NE) por locus, la heterocigocidad esperada (HE) y observada (HO) y el poder de exclusión (PE) de cada marcador fueron estimados utilizando el programa GenAIEx 6.5 (Peakall y Smouse, 2012).

El Contenido de Información Polimórfica (CIP) para cada marcador se estimó con el programa Excel Microsatellite Toolkit V 3.1.1 (Park, 2001).

Las pruebas exactas para desviaciones del equilibrio de Hardy Weinberg (HW) por raza fueron estimadas usando simulaciones de Montecarlo vía cadenas de Markov) con el programa Genepop 4.2 (Rousset, 2008).

La estructura de las poblaciones fue analizada por los estadísticos F de Wright ( $F_{is}$ ,  $F_{st}$  y  $F_{it}$ ) según lo propuesto por Weir y Cockerham (1984) usando el programa Fstat versión 2.9.3.2 (Goudet, 2002). Para estimar el nivel de significancia de los índices, se usaron permutaciones aleatorias de los genotipos entre las muestras (Jackknifing).

Dos métodos fueron usados para analizar la diferenciación genética. Primero, la distancia genética estándar de Nei (Nei, 1987) fue estimada con los software genAIEx 6.5 y Genepop 4.2 para definir las diferencias genéticas entre las 13 razas analizadas. Los valores de las distancias genéticas se utilizaron para construir un árbol consenso mediante el algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages) con el software MEGA versión 6 (Tamura et al., 2013).

Segundo, la estructura de la población y el grado de mezcla se estimaron mediante un modelo de agrupación Bayesiano del programa STRUCTURE (Pritchard et al., 2000). El programa estima, utilizando genotipos de múltiples loci para asignar los individuos a las poblaciones, proporciones de mezcla individual y deduce el número de poblaciones parentales (K) para una muestra dada. Según lo sugerido por varios autores, el análisis incluyó un modelo de mezcla con frecuencias alélicas correlacionadas (Ciani et al., 2013; Pritchard et al., 2000; Zuccaro et al., 2008).

Para obtener un valor de K representativo, se realizaron 12 corridas independientes para cada K ( $1 \leq K \leq 13$ ). Para todas las corridas se adoptó un periodo de burn-in de 200.000 generaciones seguido por 1'000.000 de interacciones MCMC (Markov Chain Monte Carlo). El número más probable de agrupaciones o K (poblaciones o razas) presentes en el conjunto de datos se calculó con el algoritmo  $\Delta K$  propuesto por Evanno et al. (2005).

## 8.2.5. Resultados y Discusión

### 8.2.5.1. Variabilidad genética de la población en general

Para la población de ovinos en general se encontraron un total de 157 alelos en los 549 animales genotipados para los 11 loci microsatélite (Tabla S-2). El número de alelos varió de 10 para los loci SRCRSP5, SRCRSP9 y BM1824 a 23 para el locus ILSTS28. Se encontró un promedio de 14,27 alelos/locus, valor que es ligeramente superior a los 13.53 alelos/locus encontrados por Zhong et al. (2010) en una población de 584 ovejas (10 razas) en China utilizando 19 marcadores microsatélites. Varias medidas de variabilidad genética estimadas para cada locus en la población de ovinos en general se muestran en la Tabla 2.

La heterocigocidad esperada ( $H_e$ ), la cual es considerada como el mejor estimador de variabilidad genética presente en población (Kim et al., 2002) varió entre 0,669 para el locus ILSTS 5 y 0,857 para el locus MAF33. La  $H_e$  promedio fue de 0,770 para el total de la población, valor que indica que en general las poblaciones de ovinos colombianos poseen una alta variabilidad genética. En tanto la heterocigocidad observada ( $H_o$ ) varió entre 0,445 para el locus SRCRSP5 y 0,839 para el locus ILSTS28. La  $H_o$  promedio fue de 0,683 para los 11 loci analizados en la población. Se puede observar que en todos los casos la  $H_o$  fue menor a la  $H_e$ , a excepción de los loci SRCRSP9 e ILSTS28 donde fue mayor. Resultados similares fueron encontrados por Gornas et al. (2011); Zhong et al. (2010); Bozzi et al. (2009), etc., en poblaciones ovinas de Sudan, China e Italia, respectivamente.

**Tabla 2.** Número de alelos (Na), Número efectivo de alelos (Ne), Heterocigocidad observada (Ho), Heterocigocidad esperada (He), Contenido de Información Polimórfica (CIP), Poder de Exclusión (PE), Poder de Exclusión Acumulado (PE Acum) y estadísticos F (Fis, Fit, Fst) por locus.

LOCUS	Na	Ne	Ho	He	CIP	PE	PE Acum	Fis	Fst	Fit
<b>OarCB 2256</b>	21	6,535	0,770	0,847	0,895	0,719	0,7197	0,069	0,032	0,099
<b>MAF 33</b>	13	7,006	0,831	0,857	0,841	0,716	0,9205	0,022	0,033	0,054
<b>ILSTS 28</b>	23	5,493	0,839	0,818	0,799	0,656	0,9727	-0,05	0,032	-0,016
<b>ILSTS 11</b>	14	5,376	0,674	0,814	0,792	0,64	0,9901	0,164	0,037	0,195
<b>MCM 140</b>	13	5,090	0,697	0,804	0,814	0,625	0,9963	0,108	0,042	0,145
<b>BM1824</b>	11	4,629	0,611	0,784	0,754	0,583	0,9984	0,217	0,033	0,242
<b>SRCRSP 1</b>	14	3,696	0,690	0,729	0,689	0,508	0,9992	0,02	0,053	0,073
<b>SRCRSP 5</b>	10	3,732	0,445	0,732	0,691	0,505	0,9996	0,397	0,01	0,403
<b>SRCRSP 9</b>	10	3,553	0,798	0,719	0,684	0,498	0,9998	-0,183	0,086	-0,081
<b>MAF 214</b>	12	3,310	0,561	0,698	0,647	0,458	0,9998	0,179	0,042	0,213
<b>ILSTS 5</b>	16	3,018	0,596	0,669	0,661	0,455	0,9999	0,089	0,029	0,115
<b>Promedio</b>	14,272	4,676	0,683	0,770	0,741	-	-	0,094*	0,039*	0,129*

\*  $p < 0,05$

Respecto al contenido de información polimórfica (CIP) para cada marcador osciló entre 0,647 para el marcador MAF 214 y 0,895 para el marcador OarCB2256. El promedio general para los 11 loci microsatélite fue de 0,741 y ningún marcador mostró CIP inferior a 0,5 lo cual indica que todos los loci fueron altamente polimórficos. Los altos valores de CIP y el alto número promedio de alelos/locus indican que el panel de 11 marcadores moleculares microsatélites utilizados en el presente proyecto de investigación son apropiados para realizar estudios de diversidad genética en ovinos colombianos, además de estudios de mapeo genético (Kayang et al., 2002).

El Poder de Exclusión (PE) de cada uno de los marcadores osciló entre 0,455 para el marcador ILSTS 5 y 0,719 para el marcador OarCB2256. Cuando se combinó el poder de exclusión de los 11 marcadores moleculares utilizados se obtuvo un poder de exclusión superior al 99.999% lo cual indica que es prácticamente imposible

asignar una falsa paternidad utilizando este panel de marcadores microsatélites en los ovinos.

Las diferencias en la estructura de la población evaluadas por los índices de fijación de Wright, mostraron que el valor  $F_{is}$  promedio, el cual describe el exceso o déficit de heterocigotos dentro de las subpoblaciones (razas en nuestro caso) fue de 0,094 ( $p < 0,05$ ) y por lo tanto diferente de cero. Varios marcadores como SRCRSP 5, BM1824, MAF 214 y el ILSTS 11 presentaron valores de  $F_{is}$  de 0,397, 0,217, 0,179 y 0,164 respectivamente, lo cual indica que hay excesos de individuos homocigotos en las subpoblaciones para esos marcadores. Los otros marcadores restantes presentaron valores por debajo de 0,100.

El índice de fijación  $F_{it}$ , el cual mide la pérdida de heterocigocidad del individuo con respecto a la población total fue de 0,129 ( $p < 0,05$ ), lo cual indica que hay un déficit generalizado de individuos heterocigotos en la población de ovinos del país del 12,9%. El índice  $F_{st}$  el cual mide el grado de variabilidad genética explicado por diferencias entre las razas fue de 0,039. Es claro que de la variación genética total, la mayor parte corresponde a diferencias entre los individuos (96,1%) y solo el 3,9% es el resultado de diferencia entre las distintas razas. Este resultado indica que la variabilidad genética cuantificada por los marcadores microsatélites mostró un bajo grado de diferenciación genética entre las subpoblaciones o razas.

Resultados similares fueron reportados por Álvarez et al. (2012), Bozzi et al. (2009), Ben Sassi et al. (2014) y Zhong et al. (2010), donde los rangos de  $F_{st}$  reportados estuvieron entre 0,3 y 0,09. La similaridad genética entre las razas ovinas en Colombia es debida probablemente a la mezcla entre poblaciones resultado del flujo de individuos (reproductores) entre granjas y también por la falta de control en los cruzamientos entre individuos al interior de las granjas ovinas.

#### 8.2.5.2. *Variabilidad genética entre las razas*

Respecto a las razas el número promedio de alelos/locus fue de 7,077. El mayor número de alelos/locus se encontró en los ovinos criollos de pelo (11,909

alelos/locus), valor que es superior a los 7.8 alelos/locus reportado por Quiroz et al. (2007) en ovinos criollos mexicanos, a los 7,25 alelos/locus reportado por Ochipinti et al. (2012) en ovinos criollos paraguayos, y los 7,71 alelos/marcador reportado por Blackburn et al. (2011) en ovinos criollos de Estados Unidos. Sin embargo hay que tener en cuenta que el alto número de alelos encontrado en los ovinos criollos de pelo se pudo haber presentado porque se tomaron muestras de 292 individuos los cuales representan el 53.18% del total de los individuos del muestreo, y esto se debe a que esta raza es la más representativa y común del país ya que los CAM representan más del 50% del inventario ovino nacional (Arcos et al., 2002). De otro lado, el menor número de alelos/marcador se encontró en la raza MORA (5,273 alelos/marcador), número que parece bajo para hay que tener en cuenta que solamente se tomaron muestras a ocho individuos de esta raza debido a que es escasa en el país. Sin embargo ese número de alelos/marcador fue superior a los 4.5 alelos/locus reportado por McCleanet et al. (2011) para la raza Blackbelly en Barbados. Varias medidas de variabilidad genética para cada una de las razas se muestran en la tabla 3.

**Tabla 3.** Número de individuos (N), número promedio de alelos (Na), número efectivo de alelos (Ne), Heterocigicidad observa (Ho) y esperada (He) y valor de Fis para cada una de las razas. BB, Blackbelly; CAM, Camuro; CRRD, Corriedale; CRL, Criolla de Lana; DP, Dorper; DS, Dorset; HAM, Hampshire; KT, Katahdin; MORO, Moro Colombiano; PCN, Persa Cabeza Negra; PBY, Pelibuey; ROM, Romney Marsh; STI, Santa Inés.

RAZA	N	Na	Ne	Ho	He	Fis
BB	27	7,364	3,704	0,653	0,718	0,109
CAM	292	11,909	4,428	0,670	0,754	0,112
CRRD	15	5,818	3,639	0,727	0,709	0,009
CRL	23	7,091	4,071	0,676	0,731	0,098
DP	22	6,182	3,995	0,674	0,732	0,103
DS	15	6,091	4,084	0,697	0,724	0,072
HAM	14	6,182	3,956	0,740	0,723	0,013
KT	47	8,909	3,972	0,718	0,734	0,033
MORA	8	5,273	3,795	0,648	0,697	0,136
PBY	14	6,000	3,670	0,721	0,709	0,020
PCN	21	7,273	4,389	0,654	0,744	0,145

<b>ROM</b>	32	7,273	3,737	0,696	0,707	0,032
<b>STI</b>	19	6,636	3,638	0,632	0,707	0,133

La Ho más baja se presentó en la raza STI (0,632) y la más alta en la raza HAM (0,740), mientras que la He mostro su valor más bajo en la raza MORA (0,697) y el más alto en CAM (0,754). La He y la Ho no difirieron ampliamente entre las razas, siendo la raza PCN la que mostró la más alta diferencia y ROM la más baja. En términos generales cada una de las razas presentó alta variabilidad genética para todos los loci analizados.

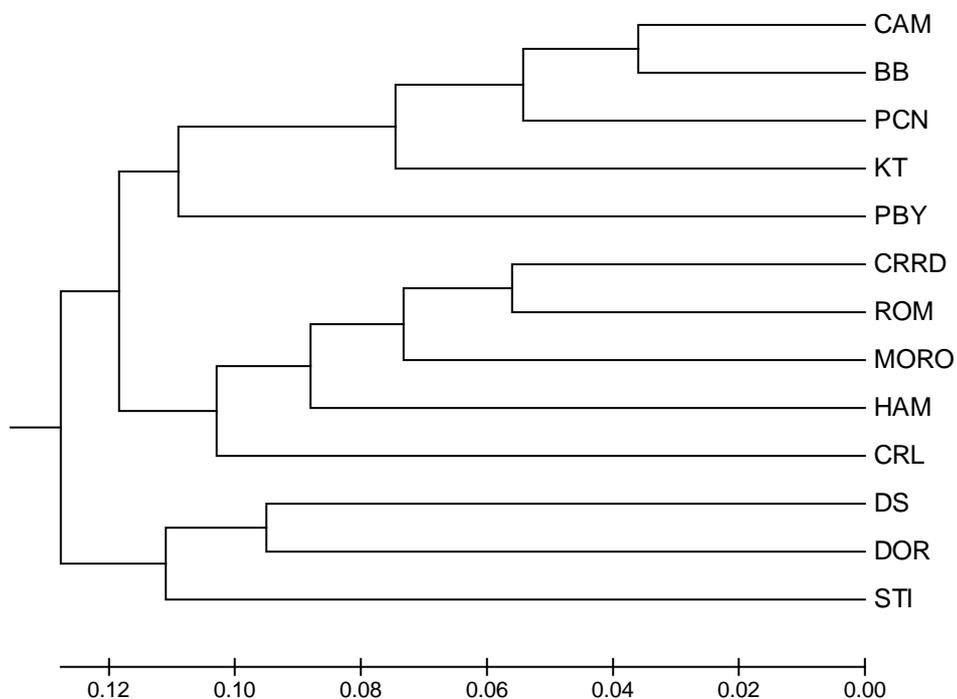
Las pruebas de equilibrio de Hardy Weinberg para cada una de las razas a partir de los 11 microsatélites analizados mostraron desvíos significativos ( $p < 0,05$ ) en 33 de 143 pruebas de HW realizadas (Tabla S-3), lo cual se debe al déficit de heterocigotos en cada una de las razas. Se observó que en solamente 2 razas (Hampshire y Mora Colombiana) de las 13 evaluadas no hubo déficit de heterocigotos. El déficit de heterocigotos en las 11 razas restantes se puede atribuir a varios factores, entre ellos la endogamia y la selección.

Los estimados de la consanguinidad ( $F_{is}$ ) para cada una de las razas tuvieron un valor promedio de 0,078, oscilando entre 0,009 para la raza CRRD y 0,145 para la raza PCN. Todas las razas presentaron valores de  $F_{is}$  superiores a cero lo cual indica que hay un déficit generalizado de individuos heterocigotos en cada una de las razas. Entre las causas de este déficit de heterocigotos en las razas pudieran estar la endogamia (apareamiento entre individuos emparentados) y la selección (en virtud a características deseadas en la producción) (Álvarez et al., 2012).

Sin embargo, la principal causa del déficit de heterocigotos en las poblaciones ovinas investigadas se puede atribuir a la endogamia y se debe en gran parte a que en la mayoría de granjas ovinas visitadas del país no se tiene control en el cruzamiento de sus animales y por lo tanto es bastante frecuente el cruce entre individuos emparentados lo que lleva finalmente a la reducción de heterocigotos en las poblaciones (Martínez et al., 2009).

De otro lado la gran mayoría de sistemas productivos del país están constituidos por uno o dos machos reproductores los cuales se cruzan con todas las hembras del rebaño, lo cual puede reducir considerablemente la variabilidad genética de las poblaciones y contribuir a la reducción de individuos heterocigotos en la población (Tolone et al., 2012)

La matriz de las distancias genéticas estándar de Nei entre las distintas razas están presentes en la Tabla S-4 y el correspondiente árbol filogenético está presente en la Fig 2.



**Fig 2.** Árbol filogenético (UPGMA) que representan las distancias genéticas estándar de Nei entre las 13 razas de ovinos. BB, Blackbelly; CAM, Camuro; CRRD, Corriedale; CRL, Criolla de Lana; DP, Dorper; DS, Dorset; HAM, Hampshire; KT, Katahdin; MORO, Moro Colombiano; PCN, Persa Cabeza Negra; PBY, Pelibuey; ROM, Romney Marsh; STI, Santa Inés.

La distancia genética estándar de Nei fluctuó de 0,072 entre las razas CAM y KT, a 0,418 entre las razas DP y PBY. Tres clúster diferentes fueron identificados. El primero está compuesto por las razas CAM, KT, PCN, BB y PBY las cuales se caracterizan por ser razas de pelo de origen o descendencia africana a excepción de la raza KT que es de origen norteamericano pero que para su conformación se

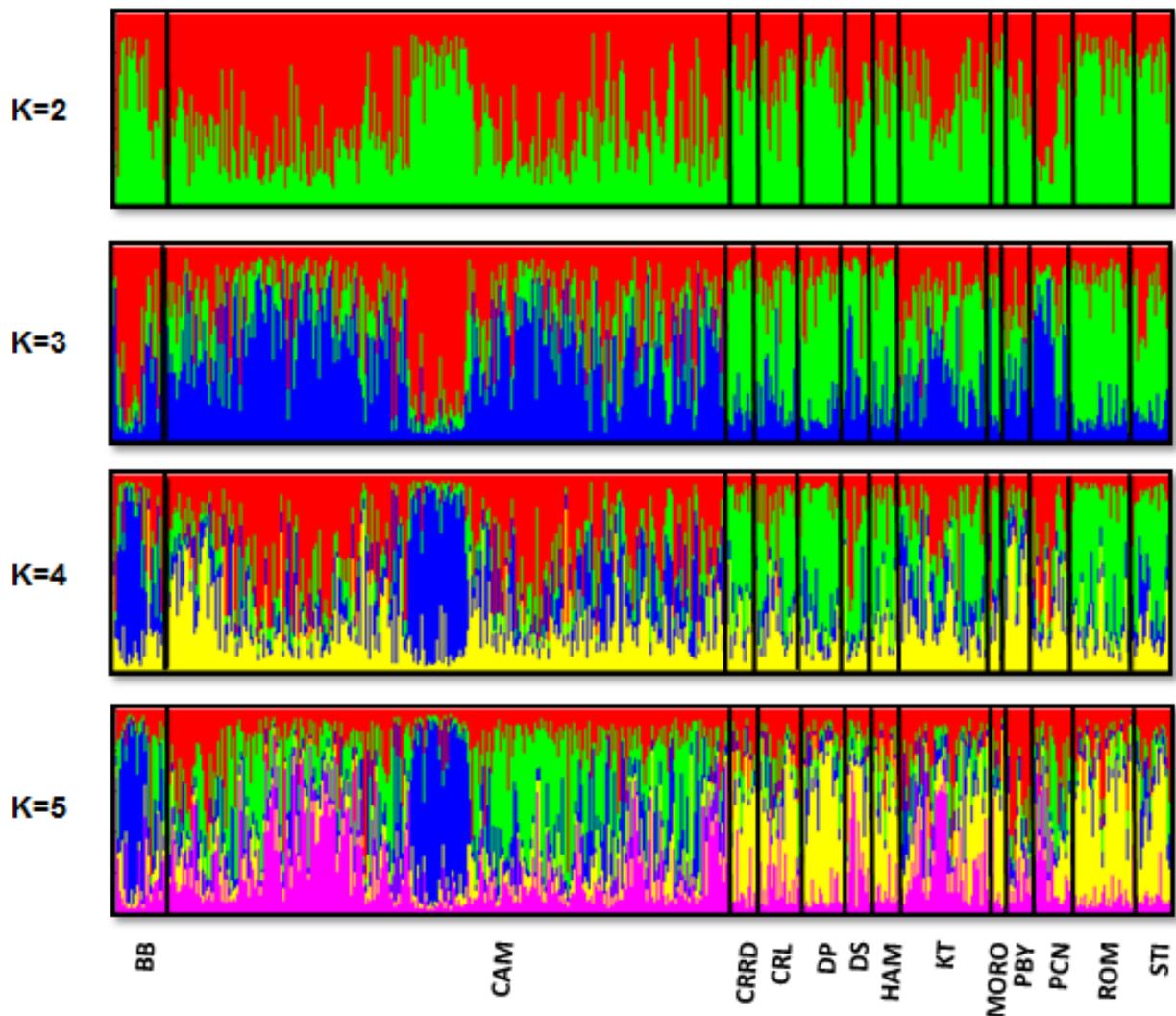
utilizaron ovinos de pelo del Caribe (Álvarez et al., 2012). Estas razas son las más ampliamente distribuidas en zonas de trópico bajo del país y es bastante frecuente que en la mayoría de granjas se encuentren individuos que corresponden a dichas razas y sus cruces F1 con el propósito de incrementar algunos parámetros productivos en la descendencia (Barrios, 2005).

El segundo clúster está conformado por las razas ROM, CRRD, CRL, MORO y HAM, las cuales son razas de lana de origen o descendencia europea (aunque la raza CRRD procede de Nueva Zelanda, se creó a partir del cruce de razas europeas como la Merino y Lincoln), y que en Colombia habitan zonas de trópico alto. Se puede observar en el segundo clúster que aunque las razas ROM y CRRD se encuentran agrupadas en el mismo nodo, dichas razas poseen orígenes ancestrales y geográficos distintos. Sin embargo en el país confluyen en las mismas regiones por lo que es bastante frecuente el cruce entre ellas y de acuerdo a los productores y expertos en ovinos es tal el nivel de mezcla entre dichas razas que fenotípicamente es muy difícil distinguir una raza de la otra. Respecto a las razas criollas de lana colombianas CRL y MORO en los sistemas productivos colombianos es bastante frecuente que estas razas criollas se utilicen como razas maternas para ser cruzadas con reproductores de las razas CRRD, ROM, HAM, etc., para obtener F1 con buenos parámetros productivos y buena capacidad de adaptación a las condiciones del trópico alto, por lo cual ha habido bastante introgresión de las razas foráneas en las poblaciones de ovinas criollas de lana en Colombia (Martínez et al., 2009).

El tercer clúster está conformado por las razas DP, DS y STI y aunque dichas razas poseen orígenes geográficos distintos es de resaltar que la raza DP se creó en Sudáfrica a partir del cruce de las razas DS y PCN (Soma et al., 2012). Por lo tanto los resultados del análisis de la matriz de distancia y el árbol filogenético concuerdan con la localización geográfica, la historia del origen de las razas y las prácticas de crianza para obtener individuos mejorados genéticamente (mestizaje entre razas).

La estructura de la población fue analizada usando el programa STRUCTURE con el número esperado de clúster (K) oscilando entre 1 y 13. De acuerdo al método

propuesto por Evanno et al. (2005) (Fig. S-1) se asumió que  $K=3$  es el número más probable de poblaciones ancestrales que contribuyen a la variabilidad genética observada de las razas colombianas. Sin embargo como se demuestra en la Fig. 3 ningún valor de  $K$  mostró una clara diferenciación de alguna de las razas en un clúster específico y a medida que se incrementa el número de  $K$  se muestran patrones de mezcla más complejos, lo cual demuestra que las poblaciones de ovinos en Colombia se encuentran muy mezcladas.



**Fig. 3.** Estructura poblacional estimada con STRUCTURE de 13 ovinas en Colombia para valores de  $K$  de 2 hasta 5. BB, Blackbelly; CAM, Camuro; CRRD, Corriedale; CRL, Criolla de Lana; DP, Dorper; DS, Dorset; HAM, Hampshire; KT, Katahdin; MORO, Moro Colombiano; PCN, Persa Cabeza Negra; PBY, Pelibuey; ROM, Romney Marsh; STI, Santa Inés.

Esto puede ser considerado como la introgresión en diferentes proporciones de material genético de tres poblaciones ancestrales, como lo demuestra el valor de  $K$  más probable. La primera población ancestral podría estar conformada por las ovejas africanas que fueron traídas a América por los colonizadores y mercantes, de los cuales derivaron las razas ovinas criollas de pelo (Camuro), Blackbelly, Pelibuey y Persa cabeza negra que hay en América actualmente. La segunda población ancestral estaría conformada por ovejas de lana traídas de Europa hace 500 años aproximadamente (razas Churra y Manchega principalmente) durante la época de la conquista y colonización, de los cuales derivaron las actuales razas criollas de lana que hay en Colombia (Pastrana y Calderon, 1996). El último grupo ancestral podría estar conformado por razas europeas que han sido introducidas al país en años posteriores a la colonización con el propósito de realizar mejoramiento genético en los ovinos criollos tanto de lana como de pelo.

En términos generales, el análisis de grupos filogenéticos y de estructura en la población muestra una estructura genética compleja de las razas ovinas en Colombia, la cual está influenciada por el manejo productivo y reproductivo que se le ha dado a las razas, la distribución geográfica de las razas a lo largo del territorio nacional y los patrones históricos de migración de ovinos que han acompañado a las migraciones humanas, rutas comerciales y de colonización.

#### **8.2.6. Conclusiones**

En conclusión, todas las 13 razas evaluadas en el proyecto presentaron una alta variabilidad genética para los 11 loci microsatélites evaluados debido a que ninguno fue monomórfico, presentaron un elevado número de alelos y altos contenidos de información polimórfico (CIP).

La combinación de los 11 microsatélites utilizados en el presente proyecto es un método efectivo para la asignación de paternidades en las distintas razas ovinas del país, siendo la probabilidad de exclusión combinada superior al 99.999%.

Todas las razas de ovinos evaluadas en el presente proyecto de investigación presentaron déficit de heterocigotos en algún grado en sus poblaciones lo cual se atribuye principalmente a la endogamia debido a que en gran parte de las granjas visitadas los animales son criados bajo sistemas de producción artesanales y tradicionales en los que no hay control en el cruzamiento de sus animales lo cual reduce la heterocigocidad en las poblaciones.

Finalmente, este estudio contribuye al conocimiento de la estructura genética y la caracterización molecular de las poblaciones de ovinos colombianos. Para proteger a las razas ovinas autóctonas efectivamente, la variabilidad genética de las poblaciones debería ser incluida en las decisiones para futuros planes de conservación de los recursos genéticos nacionales.

### **Agradecimientos**

Agradezco al comité para el desarrollo de la investigación (CODI) y al grupo de investigación en Genética, Mejoramiento y Modelación Animal GaMMA de la Universidad de Antioquia por la financiación del proyecto de investigación. También agradezco a Colciencias por la beca de jóvenes investigadores e innovadores 2011 de la cual fui beneficiario. Un agradecimiento muy especial a los productores ovinos que participaron del proyecto por la enorme colaboración que me prestaron para la toma de muestras y ante todo por la muy amable atención que me brindaron durante la visita a sus granjas.

## 9. Datos suplementarios

**Tabla S-1.** Número de muestras tomadas por departamento y raza.

DEPARTAMENTO	Raza	Nº DE MUESTRAS	TOTAL
ANTIOQUIA	Blackbelly	1	84
	Camuro	37	
	Dorset	11	
	Katahdin	17	
	Pelibuey	14	
	Persa Cabeza negra	3	
	Santa Ines	1	
BOYACÁ	Camuro	2	43
	Criollo de lana	23	
	Hampshire	13	
	Mora Colombiana	3	
	Romney Marsh	2	
CALDAS	Blackbelly	2	29
	Camuro	5	
	Dorper	2	
	Dorset	1	
	Katahdin	3	
	Persa Cabeza Negra	1	
	Romney Marsh	12	
	Santa Ines	3	
CESAR	Blackbelly	15	62
	Camuro	42	
	Dorper	3	
	Katahdin	2	
CÓRDOBA	Camuro	20	30
	Dorper	1	
	Katahdin	8	
	Santa Ines	1	
LA GUAJIRA	Camuro	73	97
	Dorper	3	
	Katahdin	9	
	Persa Cabeza Negra	11	
	Santa Ines	1	
MAGDALENA	Camuro	8	8
RISARALDA	Dorper	8	20
	Katahdin	1	
	Santa Ines	11	
SANTANDER	Blackbelly	1	72
	Camuro	25	
	Corriedale	15	
	Dorset	3	
	Hampshire	1	
	Moro Colombiano	5	
	Persa Cabeza Negra	4	
	Romney Marsh	18	
SUCRE	Blackbelly	3	38
	Camuro	33	
	Katahdin	1	
	Persa Cabeza Negra	1	
VALLE DEL CAUCA	Blackbelly	5	66
	Camuro	47	
	Dorper	5	
	Katahdin	6	
	Persa Cabeza Negra	1	
	Santa Ines	2	
TOTAL			549

**Tabla S-2.** Frecuencias alélicas para cada uno de los marcadores microsatélites.

Alelo	OarCB 2256	MAF 33	ILSTS 28	ILSTS 11	MCM 140	BM1824	SRCRSP 1	SRCRSP 5	SRCRSP 9	MAF 214	ILSTS 5
1	0,25	1,64	0,08	0,08	0,16	0,08	0,25	0,08	0,16	2,46	0,08
2	33,69	19,92	0,08	0,16	4,10	4,10	0,25	0,16	22,30	0,08	0,08
3	0,33	15,82	0,08	6,39	7,70	13,44	0,08	0,25	2,95	8,28	0,08
4	0,08	4,59	2,05	5,16	2,87	33,44	9,51	2,30	43,77	36,64	2,05
5	0,16	1,80	21,72	0,08	2,62	18,11	30,08	40,57	17,54	39,02	0,66
6	9,75	0,66	2,62	7,54	32,70	20,00	39,84	3,20	5,98	0,33	2,87
7	3,28	5,33	0,08	12,62	17,95	10,25	4,67	11,39	3,20	0,16	3,20
8	1,72	3,61	0,08	10,49	20,00	0,25	6,23	23,77	1,15	0,49	51,72
9	5,49	22,13	3,03	3,69	7,30	0,08	0,16	18,03	0,08	1,89	21,64
10	7,62	12,70	2,21	24,67	3,20	0,08	8,20	0,25	2,87	8,85	7,30
11	3,28	5,90	0,08	28,85	0,82	0,16	0,33	-	-	0,16	7,95
12	0,16	5,33	0,57	0,08	0,41	-	0,16	-	-	1,64	0,33
13	3,28	0,57	12,30	0,08	0,16	-	0,16	-	-	-	1,31
14	1,89	-	32,21	0,08	-	-	0,08	-	-	-	0,41
15	6,72	-	3,20	-	-	-	-	-	-	-	0,16
16	4,43	-	1,89	-	-	-	-	-	-	-	0,16
17	7,38	-	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-
18	1,07	-	0,16	-	-	-	-	-	-	-	-
19	1,97	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
20	7,30	-	7,95	-	-	-	-	-	-	-	-
21	0,16	-	1,39	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	6,64	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	1,23	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tabla S-3.** Test de Equilibrio de Hardy Weinberg por razas.

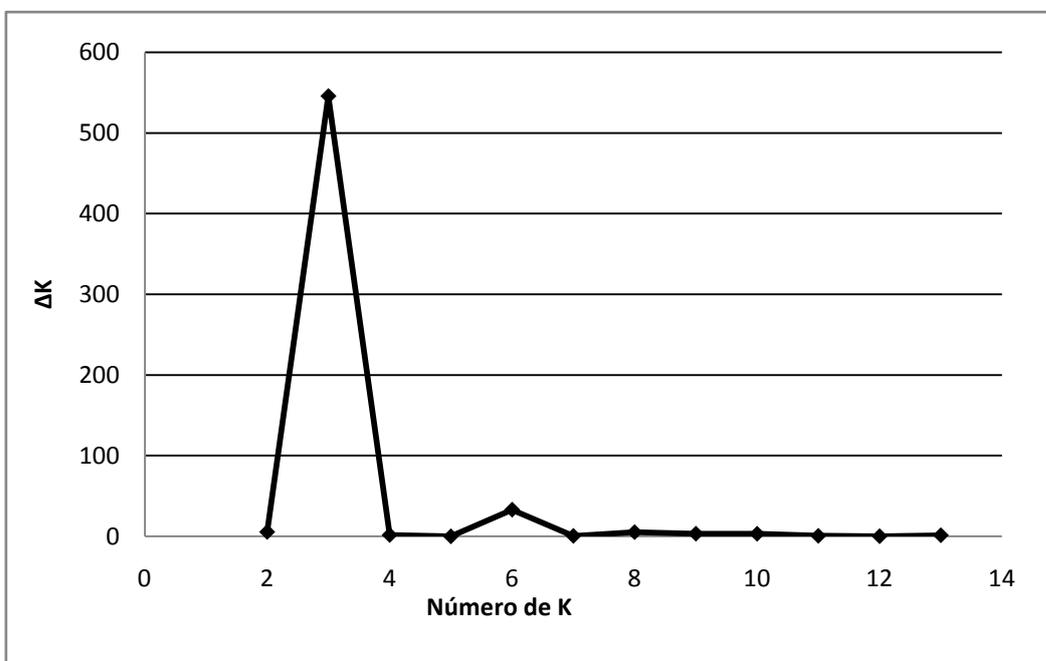
<b>LOCI</b> <b>RAZA</b>	<b>OarCB 2256</b>	<b>MAF 33</b>	<b>ILSTS 28</b>	<b>ILSTS 11</b>	<b>MCM 140</b>	<b>Bm1824</b>	<b>SRCRSP 1</b>	<b>SRCRSP 5</b>	<b>SRCRSP 9</b>	<b>MAF 214</b>	<b>ILSTS 5</b>
<b>BB</b>	0,013*	0,987	0,034*	0,580	0,003*	0,071	0,099	0,035*	0,184	0,043*	0,000*
<b>CAM</b>	0,000*	0,002*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,084	0,000*	0,000*	0,000*	0,949
<b>CRRD</b>	0,789	0,498	0,377	0,023*	0,646	0,526	0,429	0,135	0,378	0,239	0,472
<b>CRL</b>	0,000*	0,582	0,490	0,526	0,788	0,633	0,414	0,000*	0,325	0,881	0,976
<b>DP</b>	0,988	0,188	0,943	0,125	0,261	0,100	0,968	0,001*	0,144	0,679	0,286
<b>DS</b>	0,283	0,227	0,531	0,565	0,245	0,008*	0,863	0,125	0,529	0,985	0,096
<b>HAM</b>	0,386	0,917	0,123	0,773	0,054	0,360	0,968	0,562	0,081	0,955	0,482
<b>KT</b>	0,858	0,930	0,655	0,040*	0,434	0,059	0,987	0,000*	0,561	0,033*	0,990
<b>MORO</b>	0,674	0,593	0,123	0,449	0,716	0,161	0,823	0,187	0,235	0,184	0,989
<b>PBY</b>	0,584	0,718	0,940	0,489	0,416	0,958	0,990	0,459	0,787	0,546	0,001*
<b>PCN</b>	0,758	0,933	0,692	0,012*	0,702	0,002*	0,768	0,080	0,149	0,005*	0,128
<b>ROM</b>	0,001*	0,266	0,955	0,097	0,885	0,019*	0,777	0,270	0,721	0,956	0,903
<b>STI</b>	0,180	0,438	0,018*	0,219	0,002*	0,011*	0,078	0,012*	0,750	0,801	0,734

\* Desvió significativo del equilibrio de Hardy Weinberg ( $p < 0,05$ ).

**Tabla S-4.** Matriz de la distancia genética estándar de Nei entre razas

	BB	CAM	CRRD	CRL	DP	DS	HAM	KT	MORO	PBY	PCN	ROM
<b>CAM</b>	0,082											
<b>CRRD</b>	0,317	0,229										
<b>CRL</b>	0,227	0,153	0,156									
<b>DP</b>	0,307	0,249	0,234	0,266								
<b>DS</b>	0,334	0,230	0,234	0,176	0,222							
<b>HAM</b>	0,325	0,267	0,242	0,164	0,249	0,272						
<b>KT</b>	0,168	0,072	0,182	0,141	0,211	0,181	0,236					
<b>MORO</b>	0,302	0,235	0,207	0,175	0,303	0,344	0,219	0,219				
<b>PBY</b>	0,275	0,182	0,281	0,229	0,418	0,336	0,320	0,210	0,333			
<b>PCN</b>	0,197	0,087	0,277	0,168	0,248	0,285	0,248	0,130	0,210	0,205		
<b>ROM</b>	0,300	0,187	0,112	0,137	0,265	0,224	0,198	0,161	0,146	0,179	0,193	
<b>STI</b>	0,218	0,183	0,248	0,176	0,222	0,190	0,253	0,161	0,254	0,338	0,264	0,197

**Figura. S-1.** Valores de  $\Delta K$  calculados con el algoritmo propuesto por Evanno et al. (2005).



## 10. Referencias bibliográficas.

- Álvarez, I., Capote, J., Traoré, A., Fonseca, N., Perez, K., Cuervo, M., Fernandez, I., Goayche, F., 2012. Genetic relationships of the Cuban hair sheep inferred from microsatellite polymorphism. *Small Ruminant Research*. 104, 89– 93.
- Arora R, Bhatia S, Jain A. 2010. Morphological and genetic characterisation of Ganjam sheep. *Animal Genetic Resources*, 46: 1-9.
- Barrios, C., 2005. Guía práctica de ovinocultura enfocada hacia la producción de carne. Disponible en:  
[http://www.finagro.com.co/html/cache/HTML/SIS/Ovinoscaprinos/GUIAOVINO\\_S.pdf](http://www.finagro.com.co/html/cache/HTML/SIS/Ovinoscaprinos/GUIAOVINO_S.pdf).
- Baudouin, L., Piry, S., Cornuet, J.M., 2004. Analytical Bayesian approach for assigning individuals to populations. *J. Hered.* 95, 217–224.
- Baumung, R., Cubric-Curik, V., Schwend, K., 2006. Genetic characterisation and breed assignment in Austrian sheep breeds using microsatellite marker information. *J. Anim. Breed. Genet.* 123, 265-271.
- Bautista R, SALAZAR J.J. 1980. Ovino Africano en Colombia. *Prolific tropical sheep*. Ed. I.L. Mason, FAO, Rome.
- Ben Sassi-Zaidy, Y., Maretto, F., Charfi-Cheikrouha, F., Cassandro, M., 2014. Genetic diversity, structure, and breed relationships in Tunisian sheep. *Small Ruminant Research*. In press.
- Blackburn, H.D., Toishibekov, Y., Toishibekov, M., Welsh, C.S., Spiller, S.F., Brown, M., Paiva, S.R., 2011. Genetic diversity of *Ovis Aries* populations near domestication centers and in the new world. *Springer genetic* .139, 1169 – 1178.

- Bozzi, R., Degl'Innocenti, P., Rivera Diaz, P., 2009. Genetic characterization and breed assignment in five Italian sheep breeds using microsatellite markers. *Small Ruminant Research*. 85 (1), 50-57.
- Buxade, C., 1996. Zootecnia. Bases de Producción Animal. Producción ovina. Vol VIII. Mundi-Prensa, Madrid.
- Chen, S.Y., Duan, Z.Y., Sha, T., Xiangyu, J., Wu, S.F., Zhang, Y.P., 2006. Origin, genetic diversity, and population structure of Chinese domestic sheep. *Gene* 376, 216–223.
- Cheng, Y., Xinping, Z., Xiaowen, S., 2008. Development of microsatellite markers and their utilization in genetic diversity analysis of cultivated and wild populations of the mud carp (*Cirrhina molitorella*). *Journal of Genetics and Genomics*. 35 (4), 201-206.
- Chessa, B., Pereira, F., Arnaud, F., Amorim, A., Goyache, F., Mainland, I., Kao, R.R., Pemberton, J.M., Beraldi, D., Stear, M.J., Alberti, A., Pittau, M., Iannuzzi, L., Banabazi, M.H., Kazwala, R.R., Zhang, Y.P., Arranz, J.J., Ali, B.A., Wang, Z., Uzun, M., Dione, M.M., Olsaker, I., Holm, L.E., Saarma, U., Ahmad, S., MarzanovN., Eythorsdottir, E., Holland, M.J., Ajmone- Marsan, P., Bruford, M.W., Kantanen, J., Spencer, T.E., Palmarini, M., 2009. Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations. *Science*. 324, 532–536.
- Ciani, E., Ciampolini, R., D'Andrea, M.S., Castellana, E., Cecchi, F., Incoronato, C., D'Angelo, F., Albenzio, M., Pilla, F., Matassino, D., Cianci, D., 2013. Analysis of genetic variability within and among Italian sheep breeds reveals population stratification and suggests the presence of a phylogeographic gradient. *Small Ruminant Res*. 112:21-27.
- Dalvit, C., Sacca, E., Cassandro, M., Gervaso, M., Pastore, E., Piasentier, E., 2008. Genetic diversity and variability in Alpine sheep breeds. *Small Ruminant Research*. 80, 45–51.

- De la Barra, R., Uribe, H., Latorre, E., Arranz, J., 2010. Genetic Structure and Diversity of Four Chilean Sheep Breeds. *Chilean journal of agricultural research*. 70(4), 646-651.
- Delgado, J. V.; León, J. M.; Gómez, M.; Nogales, S.; Camacho, M.E. (2009) Las razas ovinas ibéricas y su participación en la colonización de Iberoamérica. Libro: Biodiversidad ovina Iberoamericana. Caracterización y uso sustentable. Córdoba – España. 14, 18-40
- Dixit, S.P., Verma, N.K., Aggarwal, R.A.K., 2012. Genetic diversity and relationship among Indian goat breeds based on microsatellite markers. *Small Ruminant Research*. 105, 38-45.
- Dodgson, J.B., Cheng, H.H., Okimoto, R.I., 1997. DNA marker technology: a revolution in animal genetics. *Poultry Science*. 76, 1108-1113.
- Egito, A.A., Mariante, A.S., Albuquerque, M.S.M., 2002. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. *Arch. Zoot.* 51, 193–194.
- Espinal, C., Martínez, H., Amezquita, J., 2006. La cadena ovina y caprina en Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Observatorio agro cadenas. Bogotá, Colombia.
- Evanno, G., Regnaut, S., Goudet, J., 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14, 2611–2620.
- FAO, 1996. Global Project for the Maintenance of Domestic Animal Genetic Diversity (MoDAD). <http://www.fao.org/dad-is/>.
- FAO. 2011. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. No. 9. Rome.

- Gornas, N., Weimann, C., El Hussien, A., 2011. Genetic characterization of local Sudanese sheep breeds using DNA markers. *Small Ruminant Research*. 95, 27-33.
- Guo, J., Du, L.X., Ma, Y.H., Guan, W.J., Li, H.B., Zhao, Q.J., Li, X., Rao, S.Q., 2005. A novel maternal lineage revealed in sheep (*Ovis Aries*). *Anim. Genet.* 36, 331–336.
- Goudet, J., 2002. FSTAT (version 2.9.3.2): a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. F-statistics. *J. Hered.* 86, 485–486.
- Kantanen, J., Olsaker, I., Adalsteinsson, S., 1999. Temporal changes in genetic variation of north European cattle breeds. *Animal Genetics*. 30, 16-27.
- Kayang, B.B., Inoue-Murayama, M., Hoshi, T., 2002. Microsatellite loci in Japanese quail and cross-species amplification in chicken and guinea fowl. *Genet. Sel. E.* 34, 233–253.
- Kim, K.S., Yeo, J.S., Choi, C.B., 2002. Genetic diversity of north-east Asian cattle based on microsatellite data. *Animal Genetics*. 33 (3), 201–204.
- Kugonza, D.R., Jianlin, H., Nabasirye, M., 2011. Genetic diversity and differentiation of Ankole cattle populations in Uganda inferred from microsatellite data. *Livestock Science*. 135, 140-147.
- Li, M., Vilkki, J., 2007. The genetic structure of cattle populations (*Bos taurus*) in northern Eurasia and the neighbouring Near Eastern regions: implications for breeding strategies and conservation. *Molecular Ecology*. 16, 3839-3853.
- Li, X., Li, K., Fan, B., 2000. The genetic diversity of seven pig breeds in China estimated by means of microsatellites. *Asian–Aust. J. Anim. Sci.* 13, 1193-1195.

- Ligda, C., Altarayrah, J., Georgoudis, A., 2009. Genetic analysis of Greek sheep breeds using microsatellite markers for setting conservation priorities. *Small Ruminant Research*. 83, 42-48.
- McClean, L., Waterman, L., Roberts, C., 2011. Genetic Analysis of Three Populations of Barbados Black belly Sheep at Microsatellite Loci. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 1, 1187-1191.
- Martínez, R., Vásquez, R., 2005. Evaluación de la Conservación y Comportamiento Productivo del Banco de Germoplasma de la Especie Ovina en Colombia. *Animal Genetic Resources Information*. FAO. 36, 73-78.
- Martínez, R., Vásquez, R., Ballesteros, H. 2009. El ovino criollo en Colombia, conservación. Caracterización y evaluación de la variabilidad genética. Libro: Biodiversidad ovina Iberoamericana. Caracterización y uso sustentable. Córdoba – España. 18(33), 235-261.
- Maudet, C., Luikart, G., Taberlet, P., 2002. Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. *J. Anim. Sci.* 80, 942–950.
- Muigai, A.W.T., Okeyo, A.M., Kwallah, A.K., Mburu, D., Hanotte, O., 2009. Characterization of sheep populations of Kenya using microsatellite markers: Implications for conservation and management of indigenous sheep populations. *S Afr J Anim Sci.* 39 (1), 93–96.
- Mullis, K.B., Faloona, F.A., 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*. 155, 335-350
- Nei, M., 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York

- Ochipinti, G., Núñez, L., Casal, C., Samudio, A., Castro, L., Ramírez, L., León, D., Martínez, A., Oka, A., Landi, V., Delgado J.V., Martínez, O., 2012. Diversidad genética en ovejas de los humedades de la región Oriental del Paraguay. *Actas Iberoamericanas de conservación animal*. AICA 2 227-230
- Park, S.D.E., 2001. Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection [ Ph.D. thesis ] University of Dublin.
- Pastrana, R., Calderón, C, 1996. El ovino criollo colombiano. *Los animales domésticos criollos y colombianos en la producción pecuaria nacional*. 1, 65-71.
- Peakall, R., Smouse, P.E., 2012. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*. 28, 2537-2539.
- Peters, J., Driesch, A.V., Helmer, D., 2004. The upper Euphrates-Tigris basin: cradle of agro-pastoralism. *The First Steps of Animal Domestication*.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 155, 945–959.
- Quiroz, J., Martínez A., Landi V., Zaragoza L., Martínez, R., Perezgrovas G., y Vega-Pla J. L. 2007. Relación genética de la raza ovina de Chiapas con algunas razas ovinas españolas. *Archivos de Zootecnia*. 56 (1), 441-447.
- Rosa, A.J.M., Sardina, M.T., Mastrangelo, S., Tolone, M., Portolano, B., 2013. Parentage verification of Valle del Bécice dairy sheep using multiplex microsatellite panel. *Small Ruminant Research*. 113, 62-65.
- Rousset, F., 2008. Genepop'007: a complete reimplementaion of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resources*. 8, 103-106.

- Scintu, M.F., Piredda, G., 2007. Typicity and biodiversity of goat and sheep milk products. *Small Ruminant Research*. 68, 221–231.
- Sodhi, M., Mukesh, M., Bhatia, S., 2006. Characterizing Nali and Chokla sheep differentiation with microsatellite markers. *Small Ruminant Research*, 65, 185–192.
- Sollero, B.P., Paiva, S.R., Faria, D.A., 2001. Genetic diversity of Brazilian pig breeds evidence by microsatellite markers. *Livestock Science*. 123, 8-15.
- Soma, P., Kotze, A., Grobler, J.P., Van Wyk, J.B. 2012. South African sheep breeds: Population genetic structure and conservation implications. *Small Ruminant Research*, 103, 112-119.
- Souza, C.A., Paiva, S.R., McManus, C.M., 2012. Genetic diversity and assessment of 23 microsatellite markers for parentage testing of Santa Ines hair sheep in Brazil. *Genet Mol Res*. 8, 1217-29.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 30, 2725-2729.
- Tapio, M., Ozerov, M., Tapio, I., Toro, M.A., Marzanov, N., Cinkulov, M., Goncharenko, G., Kiselyova, T., Murawski, M., Kantanen, J., 2010. Microsatellite-based genetic diversity and population structure of domestic sheep in northern Eurasia. *BMC Genet*. 10, 11–76.
- Tolone, M., Mastrangelo, S., Rosa, A.J.M., Portolano., 2012. Genetic diversity and population structure of Sicilian sheep breeds using microsatellite markers. *Small Ruminant Research*. 102, 18-25.

- Weir, B.S., Cockerham, C., 1984. Estimating  $F$ -statistics for the analysis of population structure. *Evolution*. 38, 1358–1370.
- Wismans, W., Akkerman, T.M., 2001. Identification and registration of cattle: a challenge for breeding organizations. In: Vares, T., Habe, F., Klopčič, M., Kompan, D. (Eds.), *The Role of Breeders' Organisations and State in Animal Identification and Recording in CEE Countries*, Proceedings of the Workshop held in Bled, Slovenia, 15 May 2000, number 5 in ICAR Technical Series No. 5, ICAR, Villa del Ragno, Via Nomentana 134, 00162 Rome, Italy, pp. 41 – 51.
- Zhong, T., Han, J., Guo, J., 2010. Genetic diversity of Chinese indigenous sheep breeds inferred from microsatellite markers. *Small Ruminant Research*. 90, 88-94.
- Zuccaro, A., Bordonaro, S., Criscione, A., Guastella, M., Perrotta, G., Blasi, M., D'Urso, G., Marletta, D., 2008. Genetic diversity and admixture analysis of Sanfratellano and three other Italian horse breeds assessed by microsatellite markers. *Animal*, 991–998.