

Caracterización genética mediante microsatélites del ganado criollo y Holstein del trópico alto sur del Ecuador

Genetic characterization using microsatellites of Creole and Holstein cattle from the high southern tropics of Ecuador

Silvana Méndez^{1,3*}, Manuel Soria^{1,3}, Antonio J. Vallecillo^{2,3}, Guillermo E. Guevara³, Estuardo Palacios³ Omar Andrade³, Jorge Bustamante³

RESUMEN

El objetivo del estudio fue analizar los parámetros génicos y genotípicos mediante microsatélites de bovinos criollos (BC) del trópico alto sur del Ecuador y contrastarlos con Holstein (BH) de registro. Se colectó sangre de 7 subpoblaciones de BC y 3 de BH. Se analizaron 15 marcadores agrupados en 4 mezclas; 1) CSRM60, INRA083, CSSM66; 2) ETH3, HEL9, TGLA53, BM1818, ILSTS006; 3) BM2113, ETH225, TGLA122, ETH10; y 4) TGLA227, INRA032, SPS115. Se determinaron parámetros de variación genética: número de alelos (Na), número de alelos efectivos (Ne), frecuencia de alelos nulos (f-Null), heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He), contenido de información polimórfica (CIP), índice de endogamia (Fis), equilibrio Hardy-Weinberg (EHW). Además, se construyó un dendrograma con base a las distancias de Nei y las identidades. Finalmente, el análisis multilocus AMOVA. En la mayoría de los loci, los BC presentaron mayor número de Na y Ne que los BH. Algunos marcadores no presentan EHW. Con relación a la Ho no existió diferencia significativa entre BC y BH, excepto en el marcador ETH3. En el

¹ Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Parroquia Victoria del Portete, Ecuador

² Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador

³ Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador

* Autor de correspondencia: Silvana Méndez; silvana.mendez12@ucuenca.edu.ec

Recibido: 16 de noviembre de 2023

Aceptado para publicación: 2 de noviembre de 2024

Publicado: 20 de diciembre de 2024

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

dendograma las subpoblaciones de BC y BH se ubicaron en dos grupos en ramas cercanas del árbol, pero bien diferenciadas entre sí. Se encontró un porcentaje de varianza de 6% entre subpoblaciones. En conclusión, los BC se diferencian de los BH en mayor número de alelos en el 80% de los marcadores y elevada heterocigosidad. Además, la población BC y BH manifiestan distancias filogenéticas definidas. El marcador ETH3 permite diferenciar de manera contundente los BC de los BH.

Palabras clave: alelos, frecuencias, heterocigosidad, distancia genética

ABSTRACT

The aim of this study was to analyse the gene and genotypic parameters using microsatellites of Creole bovine (CB) from the high southern tropics of Ecuador and contrasting them with registered Holstein bovine (HB); For this, blood was collected from 7 CC and 3 BC subpopulations. Fifteen markers grouped into 4 mixtures were analysed; 1) CSRM60, INRA083, CSSM66; 2) ETH3, HEL9, TGLA53, BM1818, ILSTS006; 3) BM2113, ETH225, TGLA122, ETH10; and 4) TGLA227, INRA032, SPS115. Genetic variation parameters were determined: number of alleles (Na), number of effective alleles (Ne), frequency of null alleles (f-Null), observed heterozygosity (Ho) and expected (He), Polymorphism Information Content (PIC), inbreeding coefficients (Fis), Hardy-Weinberg equilibrium (HWe). In addition, a dendrogram was constructed based on Nei's distances and identities, and finally, the AMOVA multilocus analysis. In most of the loci, the CB presented a higher number of Na and Ne than the HB. Some markers do not have HWe. Regarding Ho, there was no significant difference between BC and BH, except for the ETH3 marker. In the dendrogram, the BC and BH subpopulations were in two groups on nearby branches of the tree, but well differentiated from each other. A variance percentage of 6% was found between subpopulations. In conclusion, BC differ from BH in a greater number of alleles in 80% of the markers and high heterozygosity. In addition, the BC and BH populations show defined phylogenetic distances. The ETH3 marker allows to clearly differentiate BC from BH.

Key words: alleles, frequencies, heterozygosity, genetic distance

INTRODUCCIÓN

Diversos estudios se han realizado sobre las características genéticas moleculares del ganado Criollo en países del continente americano. En estos, gran número de rebaños y poblaciones en diferentes grados de aislamiento pueden ser estudiados y preservados según Delgado *et al.* (2012). La presencia de la raza Holstein en las fincas de pequeños, medianos y grandes productores de la mayoría de los países tiene un impacto importante sobre la ganadería (Chacón *et al.*, 2023).

Autores como De Alba (2011) y Aguirre *et al.* (2011) afirman que los criollos tienen características de adaptación a diferentes ecosistemas, tolerando frío y calor, sequías y húmedales, y con temperaturas variables (15 y 26 °C). Son de pequeña estatura y fuertes, caminan grandes distancias a través de pisos irregulares en busca de alimentos y abrevaderos, son resistentes a los parásitos y tienen excelente fertilidad e instinto materno. Los animales de referencia no han sido estudiados con herramientas genéticas moleculares para caracterizarlos y proponer su conservación; por lo tanto, el presente estudio analizó

los parámetros génicos y genotípicos por microsatélites en el ganado criollo del trópico alto sur del Ecuador y su comparación con el ganado Holstein registrado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de sangre a 183 bovinos (124 hembras y 59 machos). En hembras, 94 fueron adultas y 30 jóvenes, mientras que en machos 32 fueron adultos y 27 jóvenes. Los animales eran fenotípicamente criollos en rebaños ubicados en la provincia del Azuay, pertenecientes a las subpoblaciones de Dugdug (BC1, n=42), El Pan (BC2, n=23), Tarqui (BC3, n=14), Huachi (BC4, n=56), Paute (BC5, n=20), Trigo Pampa (BC6, n=19) y Girón (BC7, n=9). Además, se tuvo 67 bovinos Holstein con registro de pedigrí, pertenecientes a tres rebaños BH1 (n=22), BH2 (n=20) y BH3 (n=25) de la misma provincia, todas hembras adultas, criados a una altitud de 2500 msnm.

Las muestras fueron tomadas en el periodo enero - julio 2019 y trasladadas al Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad de Cuenca. El ADN fue extraído a partir de 1 ml de sangre utilizando el Mini Kit de ADN Genómico PureLink™ (Invitrogen, EE. UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN total se cuantificó utilizando el espectrofotómetro de microplaca de época, placa de microvolumen Take3 (Biotek, Winooski, EE. UU.). La amplificación de 15 marcadores genéticos se realizó por PCR basados en microsatélites seleccionados de los 30 sugeridos por la FAO (2011) para la caracterización genética de poblaciones bovinas. La selección fue guiada por una revisión bibliográfica en la que sustenta el uso de estos marcadores para generar datos comparables a los descritos (Armstrong *et al.*, 2006; Ginja *et al.*, 2009; Piñeira *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2015; Pereira *et al.*, 2017).

La amplificación de los marcadores genéticos se realizó en cuatro mezclas de reacciones de PCR con 10 µl de volumen (Tris-HCl 20 mM, pH 8.4; KCl 50 mM, MgCl₂ 1.5 mM; 0.2 mM de cada uno de los dNTPs, 0.1 µM de cada uno de los oligonucleótidos respectivos, 50 ng de ADN, 0.5 U de Taq ADN polimerasa). En la mezcla 1 se amplificaron los marcadores CSRM60, INRA083 y CSSM66, en la mezcla 2, ETH3, HEL9, TGLA53, BM1818 e ILSTS006, en la mezcla 3, BM2113, ETH225, TGLA122 y ETH10, y en la mezcla 4, TGLA227, INRA032 y SPS115. Las mezclas de oligonucleótidos se definieron de acuerdo con las sugeridas por la FAO (2011) y se realizó el marcado fluorescente de cada uno de los productos de PCR correspondientes a los marcadores genéticos. Los productos de PCR se analizaron en el laboratorio IdentiGEN (Irlanda), utilizando el secuenciador genético ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems, EE. UU.).

Análisis Estadístico

Con los datos obtenidos se analizaron parámetros de diversidad genética para cada marcador: número total de alelos (Na), alelos efectivos (Ne), heterocigosis observada (Ho) y esperada (He), coeficiente de endogamia (Fis), frecuencia de alelos nulos (f-Null), equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) de acuerdo con el programa Genepop v.4.5, de Rousset (2008). El contenido de información polimórfica (CIP) se obtuvo a través del programa Cervus v. 3.03 de Kalinowski *et al.* (2007). La estructura poblacional se analizó mediante las distancias genéticas de Nei entre todas las subpoblaciones y sus valores de identidad. El dendograma (UPGMA) utilizando Fst corregido se realizó con el software Popstreet de Takezaki *et al.* (2012). Los resultados de análisis multilocus AMOVA se obtuvieron con el software GenAlEx 6.5 de Peakall y Smouse (2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se muestran los resultados del Na para las subpoblaciones. El Na en BC fue alto. En 11 del total de loci se observaron más alelos Na en criollos que en Holstein; siendo en promedio esta diferencia un alelo más. Los loci LSTS006, TGLA122, BM2113, TGLA227 y ETH225 son los de mayor riqueza en BC. En BH los loci de mayor Na fueron ETH3, TGLA122 e INRA032. En ambos grupos raciales los loci de menor número fueron INRA083 y SPSS115.

Con relación a Ne, el INRA083 fue el de menor valor en ambas razas y los de mayor valor fueron BM2113, LSTS006 y ETH225 en BC y TGLA227 y ETH3 en BH. Los alelos nulos fueron en general bajos, exceptuando los loci ETH3 y TGLA122 para todas las subpoblaciones de BC y en las subpoblaciones BH1 y BH2. Considerando las subpoblaciones, el BC1 y el BH1 presentaron mayor frecuencia de f-Null.

En Costa Rica, Cordero-Solórzano *et al.* (2015) evaluaron razas de origen asiático como Brahman y europeas como Holstein, Guernsey y criollos de diferentes regiones del país, analizaron 15 marcadores, 12 de los cuales coinciden con este trabajo, y reportaron un Na mayor entre 10 a 14 y Ne menor entre 4.9 a 5.6 que en este estudio. Asimismo, bovinos criollos brasileños presentaron un Na entre 7.8 y 9.1 y en Holstein 8.2 (Egito *et al.*, 2007) en tanto que, en criollos cubanos, Acosta *et al.* (2013) mostraron un promedio de Na de 7.17, valor semejante al criollo de este estudio que fue de 7.6. El grupo de criollos del trópico alto sur del Ecuador manifestó en promedio un valor ligeramente menor de alelos Na, que el promedio de 8 reportados para criollos ecuatorianos en la provincia de Loja (Aguirre *et al.*, 2014) y de 8.2 en Manabí (Cevallos, 2017).

Los parámetros de variación se presentan en los cuadros 2 y 3. La Ho fue variable para la mayoría de los marcadores en los BC.

Los loci ETH3, INRA083 y TGLA122 presentan los valores más bajos. El locus ETH3 puede ser un marcador de contraste entre ambas razas ya que presenta diferencia de 0.40 entre sus promedios. En este marcador existe un mayor número de homocigotos, lo cual puede relacionarse con la fNull alta. Cuatro de las subpoblaciones de los BC tienen valores por debajo de 0.35 y la He fue similar para ambas razas.

En general, los criollos ecuatorianos de este estudio presentaron un valor de 0.78 de Ho, similar al 0.72 de los criollos manabitas (Cevallos, 2017), a diferencia de los negros lojanos (Aguirre *et al.*, 2014) con una Ho de 0.68. La He de los BC de este estudio fue de 0.83, en los criollos manabitas de 0.76 y en los Criollos lojanos de 0.74. La diferencia entre la Ho y la He de los criollos manabitas, lojanos y del trópico alto sur del Ecuador fue similar (0.04 – 0.06).

El CIP fue igual o superior a 0.50, tanto en los BC como en los BH para los microsatélites estudiados, lo que indica una alta diversidad de alelos en los diferentes loci. Sin embargo, en muchos marcadores coincide con Cordero-Solórzano *et al.* (2015) y con Acosta *et al.* (2013), donde los CIP de este trabajo son superiores.

Los Fis observados para cada subpoblación y para el conjunto de BC y BH fueron muy variables. Se esperaba una Fis mayor dada la situación topográfica de las subpoblaciones de criollos y su alejamiento de las ciudades; sin embargo, los resultados indican que solo en pocas subpoblaciones y específicamente en los marcadores ETH3 (0.534) y TGLA122 (0.369) se presentó esta característica. En diferentes subpoblaciones Holstein se observaron valores superiores a 0.35 en los loci INRA083, BM1818, LSTS006, BM2113, TGLA122 y ETH10 que muestran alta homocigosis.

Los valores de Fis para criollos fueron de 0.02 – 0.08 en Cuba (Acosta *et al.*, 2013); 0.04 – 0.09 en Brasil (Egito *et al.*, 2007), 0.09

Cuadro 1. Valores de Na, Ne y f-Null de los 15 microsatélites estudiados en bovinos criollos y Holstein

Marcador	Parámetro	Rebaños criollos							Rebaños Holstein				Media general	
		BC1	BC2	BC3	BC4	BC5	BC6	BC7	Media	BH1	BH2	BH3		Media
CSRM60	Na	6	8	5	7	6	6	7	6.4	4	6	6	5.3	5.9
	Ne	5.3	5.2	4.0	5.6	4.3	4.6	4.9	4.8	3.2	4.9	4.4	4.2	4.5
	f-Null	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	---	0.00	0.00	0.00	---	-----
CSSM66	Na	9	8	8	8	8	8	8	8.1	6	7	7	6.7	7.4
	Ne	7.3	6.9	6.5	6.2	5.5	3.9	4.0	5.8	4.1	5.1	6.5	5.2	5.5
	f-Null	0.07	0.06	0.09	0.07	0.04	0.02	0.00	---	0.00	0.06	0.03	---	-----
INRA083	Na	5	5	4	4	5	4	4	4.4	3	4	5	4.0	4.2
	Ne	4.0	3.2	2.6	2.5	2.7	2.2	2.1	2.7	2.3	3.1	3.8	3.1	2.9
	f-Null	0.13	0.04	0.00	0.00	0.09	0.05	0.00	---	0.13	0.08	0.16	---	-----
ETH3	Na	8	7	9	8	8	7	9	8.0	10	9	5	8.0	8.0
	Ne	5.1	5.6	7.4	5.8	6.3	4.2	7.6	6.0	7.7	7.9	2.8	6.3	6.1
	f-Null	0.27	0.31	0.32	0.23	0.11	0.30	0.22	---	0.06	0.08	0.34	---	-----
BM1818	Na	7	8	6	6	7	7	7	6.9	8	6	5	6.3	6.6
	Ne	5.4	5.9	4.8	4.7	5.3	5.6	5.6	5.3	5.9	4.7	3.5	4.7	5.0
	f-Null	0.05	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	---	0.24	0.02	0.00	---	-----
TGLA53	Na	8	9	8	7	7	5	6	7.1	8	7	6	7.0	7.0
	Ne	4.8	7.1	5.2	5.8	5.0	4.3	4.2	5.2	6.0	5.7	5.1	5.6	5.4
	f-Null	0.01	0.00	0.02	0.09	0.00	0.00	0.00	---	0.00	0.00	0.00	---	-----
HEL9	Na	6	6	8	8	8	6	7	7.0	8	8	6	7.3	7.1
	Ne	5.2	5.2	6.1	7.6	5.8	5.3	5.6	5.8	6.7	6.5	4.0	5.7	5.7
	f-Null	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	---	0.16	0.01	0.00	---	-----
LSTS006	Na	9	9	9	8	10	10	9	9.1	9	9	5	7.7	8.4
	Ne	7.0	7.3	7.0	7.1	7.9	7.6	7.1	7.3	7.3	6.2	3.4	5.6	6.4
	f-Null	0.09	0.03	0.12	0.02	0.00	0.00	0.00	---	0.19	0.07	0.08	---	-----
TGLA122	Na	9	9	9	6	10	10	11	9.1	8	11	7	8.7	8.9
	Ne	7.1	6.9	6.5	3.1	6.6	8.2	8.3	6.7	6.0	6.6	4.2	5.6	6.1
	f-Null	0.24	0.17	0.16	0.18	0.24	0.16	0.15	---	0.22	0.15	0.00	---	-----
BM2113	Na	11	11	10	10	10	7	8	9.6	7	9	7	7.7	8.6
	Ne	9.1	8.5	8.1	7.7	7.1	4.8	5.5	7.2	5.4	5.8	5.7	5.6	6.4
	f-Null	0.20	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	---	0.23	0.13	0.00	---	-----
ETH10	Na	6	6	8	8	5	4	6	6.1	4	9	8	7.0	6.5
	Ne	3.6	3.3	4.2	5.8	2.8	2.5	3.2	3.6	2.2	5.3	5.4	4.3	3.9
	f-Null	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	---	0.07	0.28	0.00	---	-----
SPS115	Na	9	7	5	6	7	5	4	6.1	5	4	3	4.0	5.0
	Ne	5.6	4.8	2.3	3.6	4.0	3.7	3.2	3.9	2.6	2.5	2.2	2.4	3.1
	f-Null	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	---	0.00	0.00	0.00	---	-----
TGLA227	Na	9	9	10	10	9	8	8	9.1	7	8	8	7.7	8.4
	Ne	6.0	6.7	7.3	7.4	7.1	6.2	6.4	6.7	4.4	6.1	6.2	6.8	6.7
	f-Null	0.00	0.00	0.08	0.01	0.01	0.00	0.00	---	0.01	0.00	0.00	---	-----
INRA032	Na	8	8	8	6	8	8	8	7.7	8	9	7	8.0	7.8
	Ne	5.8	6.4	5.7	4.0	5.3	6.1	5.8	6.2	5.9	7.8	4.2	5.6	5.9
	f-Null	0.03	0.12	0.14	0.08	0.05	0.05	0.06	---	0.03	0.03	0.00	---	-----
ETH225	Na	10	9	9	10	10	8	8	9.1	5	9	7	7.0	8.0
	Ne	8.3	7.4	7.6	8.1	8.0	6.9	5.8	7.4	2.4	5.9	5.4	4.6	6.0
	f-Null	0.12	0.01	0.08	0.04	0.00	0.00	0.00	---	0.09	0.05	0.06	---	-----

Cuadro 2. Valores de heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He); y contenido de información polimórfica (CIP) de los 15 microsatélites estudiados en bovinos criollos y Holstein

Marcador	Parámetro	Rebaños criollos							Rebaño Holstein				Media general (DE ¹)	
		BC1	BC2	BC3	BC4	BC5	BC6	BC7	Media	BH1	BH2	BH3		Media
CSRM60	Ho	1.00	0.93	0.83	0.93	0.93	1.00	1.00	0.95	0.8	0.97	0.94	0.90	0.93 (0.022)
	He	0.81	0.81	0.75	0.86	0.81	0.82	0.82	0.81	0.7	0.83	0.77	0.77	0.80 (0.015)
	CIP	0.79	0.79	0.79	0.84	0.79	0.80	0.81	---	0.66	0.81	0.75	---	---
CSSM66	Ho	0.78	0.74	0.75	0.87	0.78	0.80	0.84	0.79	0.87	0.79	0.82	0.82	0.80 (0.013)
	He	0.91	0.87	0.88	0.87	0.85	0.80	0.75	0.85	0.80	0.80	0.89	0.83	0.84 (0.016)
	CIP	0.90	0.86	0.86	0.85	0.83	0.78	0.72	---	0.77	0.78	0.88	---	---
INRA083	Ho	0.52	0.67	0.69	0.61	0.44	0.47	0.50	0.56	0.6	0.54	0.5	0.55	0.55 (0.555)
	He	0.76	0.72	0.65	0.66	0.64	0.60	0.56	0.66	0.58	0.71	0.78	0.69	0.67 (0.024)
	CIP	0.72	0.68	0.68	0.60	0.59	0.54	0.50	---	0.50	0.66	0.75	---	---
ETH3	Ho	0.30	0.26	0.33	0.54	0.77	0.24	0.45	0.41	0.80	0.82	0.80	0.81	0.46 (0.083)
	He	0.80	0.83	0.87	0.87	0.90	0.77	0.88	0.85	0.92	0.91	0.65	0.83	0.84 (0.026)
	CIP	0.79	0.81	0.81	0.85	0.89	0.74	0.87	---	0.92	0.90	0.60	---	---
BM1818	Ho	0.78	0.81	0.82	0.92	0.89	0.87	0.86	0.85	0.53	0.85	0.78	0.72	0.81 (0.034)
	He	0.83	0.87	0.80	0.80	0.85	0.84	0.84	0.83	0.90	0.83	0.80	0.84	0.83 (0.010)
	CIP	0.81	0.86	0.86	0.78	0.83	0.82	0.82	---	0.89	0.80	0.77	---	---
TGLA53	Ho	0.78	0.96	0.83	0.71	1.00	1.00	1.00	0.90	0.87	0.91	0.89	0.89	0.89 (0.031)
	He	0.80	0.88	0.83	0.87	0.80	0.78	0.78	0.82	0.90	0.90	0.82	0.89	0.85 (0.015)
	CIP	0.77	0.87	0.87	0.86	0.78	0.75	0.75	---	0.89	0.89	0.80	---	---
HEL9	Ho	0.91	0.85	0.89	0.93	0.89	0.87	0.84	0.88	0.67	0.91	0.83	0.80	0.84 (0.024)
	He	0.83	0.83	0.86	0.88	0.85	0.84	0.84	0.85	0.88	0.91	0.76	0.85	0.85 (0.012)
	CIP	0.81	0.81	0.81	0.87	0.84	0.82	0.82	---	0.86	0.90	0.74	---	---
LSTS006	Ho	0.73	0.85	0.69	0.85	0.96	1.00	1.00	0.87	0.53	0.84	0.61	0.66	0.76 (0.051)
	He	0.87	0.90	0.90	0.87	0.91	0.90	0.88	0.89	0.90	0.85	0.72	0.82	0.85 (0.018)
	CIP	0.86	0.89	0.89	0.85	0.90	0.89	0.86	---	0.89	0.84	0.68	---	---
TGLA122	Ho	0.57	0.58	0.56	0.38	0.46	0.65	0.63	0.55	0.53	0.58	0.88	0.66	0.60 (0.041)
	He	0.90	0.89	0.86	0.71	0.86	0.90	0.90	0.86	0.85	0.87	0.79	0.84	0.85 (0.019)
	CIP	0.89	0.88	0.88	0.66	0.84	0.89	0.89	---	0.83	0.86	0.76	---	---
BM2113	Ho	0.64	0.89	0.78	0.85	0.85	0.80	0.91	0.82	0.40	0.62	0.89	0.64	0.76 (0.051)
	He	0.92	0.90	0.90	0.89	0.87	0.83	0.84	0.88	0.84	0.85	0.83	0.84	0.86 (0.010)
	CIP	0.92	0.89	0.89	0.88	0.86	0.81	0.82	---	0.82	0.83	0.81	---	---
ETH10	Ho	0.54	0.81	0.94	0.92	0.78	0.73	0.77	0.78	0.47	0.32	0.78	0.52	0.71 (0.063)
	He	0.75	0.75	0.82	0.85	0.69	0.68	0.73	0.75	0.60	0.81	0.85	0.83	0.75 (0.026)
	CIP	0.72	0.72	0.72	0.84	0.63	0.62	0.68	---	0.54	0.80	0.84	---	---
SPS115	Ho	0.83	0.96	0.69	0.70	0.93	0.93	1.00	0.86	0.87	0.97	0.94	0.93	0.89 (0.035)
	He	0.84	0.82	0.61	0.73	0.80	0.75	0.74	0.76	0.66	0.67	0.58	0.64	0.70 (0.028)
	CIP	0.83	0.80	0.80	0.70	0.77	0.71	0.69	---	0.63	0.60	0.49	---	---
TGL227	Ho	0.96	1.00	0.94	1.00	0.93	0.93	1.00	0.97	0.80	0.94	0.94	0.89	0.93(0.018)
	He	0.86	0.88	0.90	0.90	0.88	0.87	0.86	0.88	0.81	0.87	0.87	0.85	0.87(0.008)
	CIP	0.84	0.87	0.87	0.89	0.87	0.85	0.85	---	0.78	0.86	0.85	---	---
INRA032	Ho	0.83	0.61	0.61	0.64	0.78	0.77	0.77	0.72	0.86	0.91	0.89	0.89	0.80(0.035)
	He	0.86	0.85	0.84	0.79	0.84	0.86	0.87	0.84	0.84	0.90	0.80	0.85	0.84(0.010)
	CIP	0.84	0.83	0.83	0.76	0.82	0.85	0.85	---	0.82	0.89	0.77	---	---
ETH225	Ho	0.73	0.89	0.76	0.64	0.85	0.80	0.89	0.79	0.67	0.76	0.78	0.74	0.76(0.027)
	He	0.91	0.89	0.89	0.91	0.89	0.88	0.85	0.89	0.80	0.84	0.85	0.83	0.86(0.011)
	CIP	0.90	0.88	0.88	0.90	0.88	0.86	0.84	---	0.77	0.83	0.83	---	---

¹ Desviación estándar en relación a la media.

Cuadro 3. Valores del Coeficiente de endogamia (Fis) y significación del equilibrio Hardy-Weinberg (HWE) de los 15 microsatélites estudiados en bovinos criollos y Holstein

Marcador	Pará- metro	Rebaños criollos								Rebaños Holstein				Media general (DE ¹)
		BC1	BC2	BC3	BC4	BC5	BC6	BC7	Media	BH1	BH2	BH3	Media	
CSSM66	<i>Fis</i>	-0.230	-0.146	-0.109	-0.083	-0.140	-0.216	-0.205	-0.139	-0.158	-0.169	-0.219	-0.152	-0.17
	<i>EHW</i>	NS	NS	NS	NS	**	***	***	***	NS	**	NS	*	(0.02)
CSSM66	<i>Fis</i>	0.138	0.152	0.150	0.024	0.081	-0.006	-0.124	0.092	-0.08	0.023	0.079	0.044	0.04
	<i>EHW</i>	NS	NS	*	NS	***	***	***	***	NS	***	NS	**	(0.03)
INRA083	<i>Fis</i>	0.312	0.077	-0.057	0.063	0.309	0.219	0.104	0.199	-0.027	0.233	0.362	0.262	0.16
	<i>EHW</i>	***	*	NS	NS	***	***	***	***	*	NS	**	**	(0.05)
ETH3	<i>Fis</i>	0.627	0.685	0.619	0.379	0.142	0.689	0.486	0.534	0.135	0.102	0.87	0.292	0.47
	<i>EHW</i>	***	***	***	**	***	***	***	***	*	***	***	**	(0.09)
BM1818	<i>Fis</i>	0.061	0.065	-0.028	-0.151	-0.050	-0.037	-0.027	0.011	0.406	-0.031	0.025	0.136	0.02
	<i>EHW</i>	**	**	NS	NS	***	***	***	***	***	*	NS	**	(0.05)
TGLA53	<i>Fis</i>	0.018	0.093	0.002	0.179	-0.242	-0.278	-0.277	-0.114	0.037	-0.012	-0.089	0.013	-0.08
	<i>EHW</i>	NS	NS	NS	NS	*	***	***	***	NS	***	NS	**	(0.05)
HEL9	<i>Fis</i>	-0.094	-0.025	-0.032	-0.052	-0.040	-0.028	-0.001	-0.024	0.239	-0.003	-0.095	0.075	-0.01
	<i>EHW</i>	NS	NS	NS	NS	**	NS	*	***	NS	***	NS	**	(0.03)
LSTS006	<i>Fis</i>	0.169	0.053	0.236	0.024	-0.062	-0.114	-0.142	0.027	0.409	0.011	0.150	0.196	0.07
	<i>EHW</i>	**	**	NS	NS	***	***	***	***	***	***	NS	**	(0.05)
TGLA122	<i>Fis</i>	0.362	0.351	0.344	0.458	0.463	0.268	0.305	0.369	0.372	0.333	-0.116	0.291	0.31
	<i>EHW</i>	***	***	***	*	***	***	***	***	*	***	***	**	(0.05)
BM2113	<i>Fis</i>	0.309	0.009	0.133	0.047	0.027	0.037	-0.082	0.082	0.523	0.270	-0.067	0.304	0.12
	<i>EHW</i>	**	**	***	NS	***	***	***	***	**	***	NS	**	(0.61)
ETH10	<i>Fis</i>	0.275	-0.086	-0.155	-0.080	-0.127	-0.075	-0.054	-0.008	0.216	0.603	0.090	0.430	0.06
	<i>EHW</i>	NS	NS	**	NS	NS	**	***	***	NS	***	NS	**	(0.08)
SPS115	<i>Fis</i>	0.017	-0.172	-0.125	0.048	-0.161	-0.250	-0.356	-0.149	-0.309	-0.458	-0.641	-0.423	-0.24
	<i>EHW</i>	NS	NS	NS	NS	***	***	***	***	NS	***	***	**	(0.07)
TGL227	<i>Fis</i>	-0.112	-0.132	-0.052	-0.114	0.049	-0.077	-0.158	-0.081	0.011	0.082	-0.084	-0.03	-0.08
	<i>EHW</i>	NS	NS	NS	NS	***	***	***	***	NS	NS	*	NS	(0.01)
INRA032	<i>Fis</i>	0.037	0.282	0.273	0.187	0.079	0.113	0.110	0.161	-0.018	-0.012	-0.114	0.01	0.09
	<i>EHW</i>	***	NS	***	**	***	***	***	***	NS	***	***	**	(0.04)
ETH225	<i>Fis</i>	0.199	-0.002	0.142	0.300	0.045	0.086	-0.039	0.099	0.167	0.167	0.085	0.16	0.11
	<i>EHW</i>	**	***	**	NS	**	***	***	NS	*	***	*	**	(0.031)

¹ Desviación estándar de la media: * p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001

± 0.12 en el Criollo lojano (Aguirre *et al.*, 2014), 0.05 en el criollo manabita (Cevallos, 2017) y 0.12 en el criollo caqueteño de Colombia (Barrera *et al.*, 2006), similares a lo encontrado en este trabajo de 0.07; que difieren con un mayor valor de Fis de 0.31 en criollo blanco oreja-negra de Colombia (Barrera *et al.*, 2006).

Con relación al EHW la mayoría de los marcadores en ambas poblaciones no estaban en equilibrio, exceptuando el marcador ETH225 en BC y el TGL227 en BH. En las subpoblaciones de BC el 35.2% estaba en EHW y en las subpoblaciones de BH el 37.8% estaba en EHW. El 80% de los loci en crio-

llos brasileños se encontraron en EHW (Egito *et al.*, 2007). Asimismo, en Costa Rica, Cordero-Solórzano *et al.* (2015) reportaron el 100%; valores superiores a los encontrados en este trabajo que fue del 35% y que es el doble (17.8%) de lo indicado en Manabí por Cevallos (2017). En muchos casos las desviaciones significativas del EHW pueden estar influenciadas por altas frecuencias de f-Null como ocurre en todas las subpoblaciones de BC, específicamente en los loci ETH3 y TGLA122 y por un Fis superior a 0.20.

En términos de diversidad genética, el presente estudio no muestra diferencias con los resultados obtenidos por Delgado *et al.*

(2020) quienes realizaron una investigación en cinco poblaciones de ganado criollo en el trópico bajo ecuatoriano, a excepción del EHW donde encontraron que la mayor parte de sus marcadores estaban en equilibrio. Por otro lado, los resultados del estudio realizado por Cabezas *et al.* (2021) en bovinos criollos de la provincia de Santa Elena coinciden con la presente investigación.

El Cuadro 4 presenta las identidades entre las subpoblaciones estudiadas. Se observan valores de medios a altos entre las subpoblaciones Holstein que muestran identidades mayores a 0.60, donde solo la subpoblación BC2 tiene una identidad de ese valor con la BH3. De las 21 relaciones de identidad entre subpoblaciones criollas y Holstein, más del 71% no alcanzan el valor de 0.50. La identidad entre las subpoblaciones criollas fue muy alta y sus valores superaron el 0.77. y de estas, el 70% mostraron identidades superiores al 0.85. Las subpoblaciones BC5, BC6 y BC7 tienen un nivel de identidad muy alto entre ellas, al igual que las BC1 con BC2 y BC3.

Las subpoblaciones BC1 y BC2 presentan grandes distancias de Nei con relación a BC4, BC5 y BC6. Estas distancias fueron

superiores al comparar con las reportadas para criollos colombianos por Barrera *et al.* (2006). Las distancias de Nei entre los Holstein fueron muy bajas.

Cuando se determinó la distancia de Nei entre ambas razas, asumiendo todos los criollos en un solo conjunto, se encontró un valor medio de 0.43; superior a la distancia reportada de 0.12 entre las mismas razas (Mejía *et al.*, 2015).

Las distancias filogenéticas de presentan en la Figura 1. Las subpoblaciones Holstein se agruparon en la parte superior del árbol, claramente separadas de las criollas. Las subpoblaciones BH1 y BH2 se encuentran cercanas, pero lejanas de la subpoblación BH3. Las siete ($n=7$) subpoblaciones criollas se agruparon en la rama inferior del árbol y se muestran en dos grupos; en uno de ellos las subpoblaciones BC1, BC2, BC3 y BC4. Las dos primeras están en un clúster y poco distanciadas, mientras que las dos restantes, aunque geográficamente están alejadas, genéticamente están cerca. El segundo grupo de subpoblaciones de criollos separa claramente la subpoblación BC5 de la BC6 y BC7, que no se distancian genéticamente entre sí. Los resultados del árbol reafirman

Cuadro 4. Distancias genéticas (Nei) debajo de la diagonal y valores de identidad sobre la diagonal en rebaños criollos y Holstein del trópico alto sur del Ecuador

		Rebaños criollos							Rebaño Holstein		
		BC1	BC2	BC3	BC4	BC5	BC6	BC7	BH1	BH2	BH3
Criollos	BC1	-----	0.969	0.916	0.779	0.862	0.901	0.819	0.447	0.426	0.556
	BC2	0.139	-----	0.939	0.861	0.917	0.926	0.883	0.480	0.491	0.604
	BC3	0.505	0.308	-----	0.968	0.866	0.822	0.777	0.485	0.488	0.476
	BC4	0.805	0.854	0.587	-----	0.957	0.787	0.793	0.556	0.580	0.466
	BC5	0.735	0.710	0.504	0.032	-----	0.973	0.972	0.440	0.484	0.447
	BC6	0.723	0.717	0.603	0.088	0.063	-----	0.999	0.424	0.390	0.531
	BC7	0.588	0.545	0.763	0.250	0.150	0.032	-----	0.429	0.422	0.516
Holstein	BH1	0.822	0.725	0.805	0.148	0.086	0.144	0.044	-----	0.870	0.604
	BH2	0.857	0.941	0.633	0.104	0.076	0.196	0.239	0.028	-----	0.735
	BH3	0.846	0.864	0.661	0.200	0.124	0.253	0.232	0.028	0.000	-----

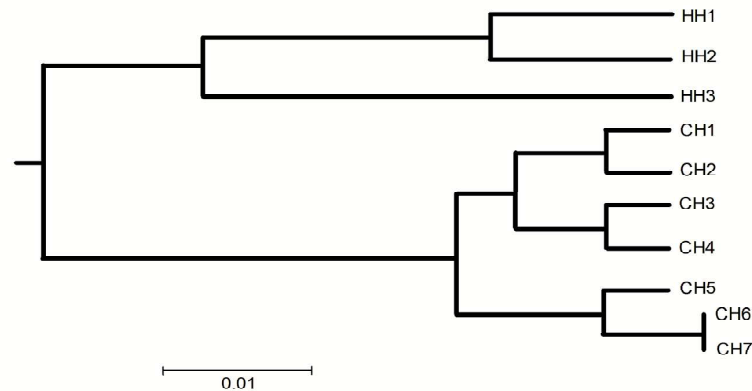


Figura 1. Árbol de distancia filogenética (UPGMA) utilizando F_{st} corregido para las 10 subpoblaciones de ganado criollo (CH) y Holstein (HH) del trópico alto sur del Ecuador

Cuadro 5. Análisis de varianza molecular (AMOVA) en poblaciones de bovinos criollos (BC) y Holstein con registro (BH) en el Trópico Alto Sur del Ecuador

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Varianza estimada	Porcentaje
Inter rebaños	9	1,3405,427	1489,492	22,874	6
Intra rebaños	490	17,7381,069	362,002	362,002	94
Total	499	19,0786,496		384,876	100

lo analizado respecto al Cuadro 4. Las distancias encontradas entre las subpoblaciones de criollos y Holstein son mayores que las reportadas en Colombia por Mejía *et al.* (2015) y Escobar *et al.* (2009). Esto permite suponer que el nivel de introgresión entre ambas razas no ha sido muy fuerte y que estos criollos mantienen muchas de sus características genéticas originales.

El Cuadro 5 indica los resultados del análisis AMOVA multilocus. El componente de variación entre subpoblaciones mostró un valor menor del 10%; por tanto, la mayor diversidad se encuentra entre los individuos dentro de las poblaciones. Los criadores deberían considerar esta información para mejorar los registros y controles en la reproducción de sus rebaños. En Colombia Mejía *et*

al. (2015) encontró que razas índicas, europeas y criollas presentaron un valor similar de 5.26% entre poblaciones, mientras que Martínez *et al.* (2015) encontraron 3% de varianza entre poblaciones Jersey y criollos de leche. Los valores más altos fueron reportados entre razas cebuinas y taurinas Lirón (Ripoli *et al.*, 2002). En Colombia Echeverri *et al.* (2015) reportaron 1.5% de variación entre poblaciones en Holstein.

CONCLUSIONES

- Los resultados muestran que las poblaciones de bovinos criollos (BC) y Holstein con registro (BH) presentan alta diversidad genética y no muestran equilibrio Hardy-Weinberg (EHW).

- Con base al dendograma UPGMA, las distancias de Nei, y el análisis de varianza multicolus se puede afirmar que hay poca diferencia entre las poblaciones estudiadas; sin embargo, la diferencia es predominante en intrapoblaciones.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dirección de Investigación de la Universidad de Cuenca por el financiamiento otorgado en la XIV Convocatoria de Proyectos de Investigación, así como a los propietarios de los bovinos por el desempeño del trabajo y las instalaciones proporcionadas para la recolección de las muestras.

LITERATURA CITADA

1. **Acosta AC, Uffo O, Sanz A, Ronda R, Osta R, Rodellar C, et al. 2013.** Genetic diversity and differentiation of five Cuban cattle breeds using 30 microsatellite loci. *J Anim Breed Genet* 130: 79-86. doi: 10.1111/j.1439-0388.2012.-00988.x
2. **Aguirre L, Bermeo A, Maza D, Merino L. 2011.** Estudio fenotípico y zoométrico del bovino criollo de la sierra media y alta de la región sur del Ecuador (RSE). *AICA* 1: 392-397.
3. **Aguirre LR, Apolo G, Chalco L, Martínez A. 2014.** Caracterización genética de la población bovina de la Región Sur del Ecuador y su relación genética con otras razas bovinas. *Anim Genet Resour* 54: 93-101. doi: 10.1017/S2078633613-000313
4. **Armstrong E, Postiglioni I A, Martínez A, Rincón G, Vega-Pla JL. 2006.** Microsatellite analysis of a sample of Uruguayan Creole bulls (*Bos taurus*). *Genet Mol Biol* 29: 267-272. doi: 10.1590/S1415-47572006000200012.
5. **Barrera GP, Martínez R, Torrijos R, Ramón F. 2006.** Caracterización molecular de una población de ganado Caqueteño y su relación filogenética con razas bovinas criollas colombianas. *Rev Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 7: 33-41. doi: 10.21930/rcta.-vol7_num1_art:57
6. **Cabezas R, Barba C, González A. 2021.** Caracterización morfométrica y molecular del ganado de doble propósito en la provincia de Santa Elena (Ecuador). Guayaquil, Ecuador: Ed. Grupo Compás. 135 p.
7. **Cevallos OFF. 2017.** Caracterización morfométrica y molecular del bovino criollo en la provincia de Manabí (Ecuador). Tesis Doctoral. Córdoba, España: Universidad de Córdoba. 179 p.
8. **Chacón-Marcheco E, Cartuche-Macas LF, Villavicencio-Estrella AN, Toro-Molina BM, Silva-Déley LM, Andrade-Aulestia PM. 2023.** Diversidad genética de la población de toros Holstein Friesian importados al Ecuador. *Rev Cient Tecnol UPSE*. 10: 33-40. doi: 10.26423/rctu.v10i1.717
9. **Cordero-Solórzano JM, Vargas-Leitón B, León-Rodríguez B, Chacón-González I, Martínez-Pichardo M. 2015.** Diversidad genética en bovinos de ocho regiones en Costa Rica. *Agron Mesoam* 26: 191-202. doi: 10.15517/am.v26i2.19275
10. **De Alba MJ. 2011.** El libro de los bovinos criollos de América. Ed. Papiro Omega, México. 444 p.
11. **Delgado JV, Martínez AM, Acosta A, Alvarez LA, Armstrong E, Camacho E, Cañón J, et al. 2012.** Genetic characterization of Latin-American Creole cattle using microsatellite markers. *Anim Genet* 43: 2-10. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02207.x
12. **Delgado JV, Barba CJ, Aguirre EL, Cabezas R, Cevallos OF, Rizzo LG, Vargas JC, et al. 2020.** Molecular inference in the colonization of cattle in Ecuador. *Res Vet Sci* 132: 257-368. doi: 10.1016/j.rvsc.2020.07.01
13. **Echeverri J, Saldamando CI, López-Herrero A. 2015.** Genetic structure analysis of a Holstein cow population.

- Rev Colomb Cienc Pecu 28: 54-63. doi: 10.17533/udea.rccp.324911
14. **Egito AA, Paiva SR, Albuquerque MSM, Mariante AS, Almeida LD, Castro SR, et al. 2019.** Microsatellite based genetic diversity and relationships among ten Creole and commercial cattle breeds raised in Brazil. BMC Genomic Data 8: 78-83. doi: 10.1186/1471-2156-8-83
15. **Escobar C, Olivera M, Ostos H, Guerra T. 2009.** Genetic variability of the zebu cattle breed (*Bos indicus*) in the department of Huila, Colombia using microsatellite molecular markers. Acta Biol Colomb 14: 173-180.
16. **[FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2011.** Molecular genetic characterization of animal genetic resources. Animal production and health guidelines. Rome: FAO. 211 p.
17. **Ginja C, Penedo MCT, Melucci L, Quiroz J, Martínez-López OR, Revidatti MA, Martínez Martínez A, et al. 2009.** Origins and genetic diversity of New World Creole cattle: inferences from mitochondrial and Y chromosome polymorphisms. Anim Genet 41: 128-141. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01976.x
18. **Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC. 2007.** Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. Mol Ecol 16: 1099-1106. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.-03089.x
19. **Lirón JP, Ripoli MV, de Luca JC, Peral-García P, Giovambattista G. 2002.** Analysis of genetic diversity and population structure in Argentine and Bolivian Creole cattle using five loci related to milk production. Genet Mol Biol 25: 413-419. doi: 10.1590/S1415-47572002000400010
20. **Martínez M, Vargas B, Cordero JM, Chacón I, León B. 2015.** Diversidad genética entre subpoblaciones raciales bovinas de Costa Rica. Agron Costarric 39: 33-45.
21. **Mejía LG, Hernández RA, Rosero CY, Solarte CE. 2015.** Análisis de la diversidad genética de ganado bovino lechero del trópico alto de Nariño mediante marcadores moleculares heterólogos de tipo microsatélite. Rev Fac Med Vet Zootec 62: 18-33. 2015. doi: 10.15446/rfmvz.v62n3.54938.
22. **Peakall R, Smouse PE. 2012.** GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. Bioinformatics 28: 2537-2539. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460
23. **Pereira JAC, Gutiérrez L, Siancas M, Orellana J, Loza AJ, Rogberg-Muñoz A, Castillo NS, et al. 2017.** Caracterización genética mediante marcadores autosómicos, mitocondriales y del cromosoma Y de bovinos criollos de los valles del departamento de Santa Cruz, Bolivia. AICA 10: 41-50.
24. **Piñeira JV, Mujica FC, Felmer RD, R, Ortiz ML, Pizarro GI, Aracena MN. 2011.** Caracterización genética de un rebaño de bovino criollo patagónico chileno. AgroSur 39. 46-56. doi: 10.4206/agrosur.2011.v39n1-05
25. **Rousset F. 2008.** Genepop 2007. Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. Mol Ecol Resour 8: 103-106. doi: 10.1111/j.1471-8286.-2007.01931.x
26. **Takezaki N, Nei M, Tamura K. 2010.** POPTREE2: Software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with Windows interface. Mol Biol Evol 27: 747-752. doi: 10.1093/molbev/msp312