

ESTRUCTURA GENÉTICA Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE OVINOS CRIOLLOS DE PELO COLOMBIANO UTILIZANDO 14 MICROSATÉLITES AUTOSÓMICOS

GENETIC STRUCTURE AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF COLOMBIAN CREOLE HAIR SHEEP WITH 14 AUTOSOMIC MICROSATELLITES

Jiménez-Robayo L.M.^{1*}, Triana-Arévalo L.F.¹, Cortes Gardyn O.²,
Leal-Gutiérrez J.D.¹, Sánchez-Isaza C.A.¹

¹Unidad de Citogenética y de Genotipificación de Animales Domésticos (UGA), Departamento de Producción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Grupo de Investigación en Genética Animal (GIGA).

²Laboratorio de Genética, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid (España). *lmjimenezr@unal.edu.co.

Keywords: Breeds; Genetic diversity; Genetic differentiation.

Palabras Clave: Razas; Diversidad genética; Diferenciación genética.

ABSTRACT

Colombia has recognized three breeds of creole hair sheep: Sudán, Etiópe y Abisinio. These breeds are distributed in middle and low-lying tropical regions and they are characterized by extraordinary adaptation to a dry tropical environment, with high fertility and low prevalence of diseases. The objective of this present study was to analyze the variability and genetic relationships in 60 samples of these three populations of Colombian creole hair sheep by using 14 autosomal microsatellites recommended by ISAG. The expected heterozygosity was similar in the three populations analyzed (≈ 0.72) while the observed heterozygosity ranged from 0.65 in Abisinio to 0.70 in the Etiópe and 0.72 in the Sudán. The average genetic distance F_{ST} was low (2.4 %), with the Sudán having the greatest distance from the other two. The correspondence analysis and the STRUCTURE software results showed the same tendency, with little genetic differentiation between Abisinio and Etiópe populations and more between the Sudán population and the other two.

RESUMEN

Actualmente se reconocen tres tipos raciales de ovinos criollos de pelo en Colombia, Sudán, Etiópe y Abisinio. Se distribuyen principalmente en zonas de trópico medio y bajo y se caracterizan por su extraordinaria adaptación al ambiente seco tropical, elevada fertilidad y baja presentación de enfermedades. El objetivo del presente estudio fue realizar el análisis de la variabilidad y relaciones genéticas de las tres poblaciones de ovinos criollos de pelo colombianos con un conjunto de 14 microsatélites autosómicos (recomendados por el ISAG) en un total de 60 muestras. Los valores de heterocigosis esperada fueron muy similares en las tres poblaciones ($\approx 0,72$), mientras que la heterocigosis observada varió entre 0,65 en la población Abisinio y 0,70 y 0,72 en la población Etiópe y Sudán respectivamente. La distancia genética F_{ST} media entre las poblaciones fue baja (2.4 %), siendo la población Sudán la que mostró las distancias genéticas más altas con respecto a las otras dos poblaciones. El análisis de correspondencia y los resultados

obtenidos con el programa STRUCTURE mostraron una misma tendencia caracterizada por una escasa diferenciación genética entre las poblaciones Abisinio y Etíope y algo mayor de la población Sudán respecto a las otras dos.

INTRODUCCIÓN

Los ovinos criollos de pelo colombiano fueron introducidos a Colombia durante la conquista y la colonización del Nuevo Mundo (Rodero *et al.*, 1992; Arcos *et al.*, 2002; Delgado *et al.*, 2009), lo que documenta sus raíces africanas a partir de la oveja prehispanica canaria de pelo presente en las Islas Canarias (Rodero, 1992). Existen registros de ingresos posteriores realizados desde las islas del Caribe a la Guajira así como ingresos que datan de 1940 de un núcleo de ovejas africanas rojas (Etíopes) procedentes de Abisinia, (hoy Etiopía) llevadas a las zonas de Armero, Honda y Venadillo (Tolima) en donde aún existe su descendencia (Arcos *et al.*, 2002). Estos ejemplares se adaptaron y reprodujeron rápidamente bajo las condiciones inhóspitas del trópico colombiano (Arcos *et al.*, 2002). Los ovinos criollos de pelo colombiano son reconocidos como oveja roja africana, camuro, pelona o criollo, según la región y se caracterizan por su alta capacidad de adaptación al medio ambiente seco tropical, su rusticidad, mansedumbre, alta fertilidad baja presencia de enfermedades y resistencia a ecto y endoparásitos (Montoya, 1957; Bautista y Salazar, 1980; Arcos *et al.*, 2002) lo que los convierte en una innegable alternativa para la seguridad y soberanía alimentaria y para el desarrollo de las comunidades menos favorecidas. Actualmente se reconocen tres tipos raciales de ovinos criollos de pelo en Colombia: Sudán, Etíope y Abisinio (que probablemente es un subtipo de Etíope) (Corpoica, 2002; comunicación personal, ANCO, 2017), los cuales son utilizados principalmente para la producción de carne y se encuentran localizados en zonas del trópico medio y bajo (Barrios, 2005), principalmente en manos de pequeños productores de escasos recursos, por lo que cumplen un importante papel económico en las comunidades rurales y en zonas de concentración de pobreza (Espinal, Covalada, & Amézquita., 2006), donde es importante la producción de subsistencia, la economía de trueque o la cultura comunitaria así como en áreas donde el comercio la economía de mercado están relativamente limitados en términos de organización, infraestructura y eficiencia (Vega, Grajales y Afanador, 2014) . Adicionalmente, tienen baja tecnificación, lo que ha generado un déficit en la coordinación de los programas de extensión y transferencia del conocimiento en torno a los productores ovinos (Moreno, 2013). La Asociación Nacional de Caprinocultores y Ovinocultores de Colombia ANCO dentro de su Reglamento Nacional de Registro y Control Productivo ha establecido un protocolo para la declaración de razas caprinas y ovinas criollas o nativas cuyo objetivo es la promoción y conservación del germoplasma de las especies caprina y ovina que han subsistido desde tiempos hispánicos y que por efectos de selección natural han prevalecido y mantenido unas características fenotípicas que permiten diferenciarlas como raza y que se transmiten a su descendencia, por lo que se han aprobado los Estándares Raciales Preliminares de estos tres tipos raciales de ovinos criollos de pelo, Sudan, Etíope y Abisinio (comunicación personal, ANCO, 2017). El objetivo del presente trabajo fue realizar el análisis de la variabilidad y relaciones genéticas de las tres poblaciones de ovinos criollos de pelo colombianos con un conjunto de 14 microsatélites autosómicos (recomendados por el ISAG).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo el muestreo de 60 hembras ovinas criollas de pelo colombiano, Sudán, Etíope y Abisinio (20/grupo racial) de los municipios de Planeta Rica y Montelíbano (Departamento de Córdoba). Se realizó la extracción de ADN con el kit DNeasy Blood & Tissue Kit de QIAGEN®

y se realizó el análisis con un conjunto de 14 microsatélites autosómicos (OarCP38, HUU616, ILSTS011, OarFCB193, OarAE129, DYMS1, OarFCB304, OarJMP58, OarVH72, BM1825, BM1824, OarFCB20, MCM140 y OarHH47) recomendados por la Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG). La amplificación por PCR de los microsatélites se realizó mediante una multiplex y fue necesario optimizar la combinación de los microsatélites en cada reacción. A las PCRs se les realizó una electroforesis capilar en un analizador genético ABI Prism® 3100 (Applied Biosystem). La identificación de los alelos para los 14 microsatélites se realizó mediante el uso de los softwares GeneScan® Software v3. y Genotyper® 1 (Applied Biosystems). Los parámetros de diversidad genética, Estadísticos F de Wright (1965) y AMOVA fueron analizados con los softwares Arlequín 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010), Cervus 3.0.7 (Slate, Marshall, & Pemberton, 2000) y GenAlEx 6.5 (Peakall & Smouse, 2012). Para la construcción de los dendrogramas se utilizó el método de agrupación de Neighbor-Joining (Nei & Saitou, 1987) con el software MEGA 7 (Kumar, Stecher, & Tamura, 2016). La estructura de la población se analizó con el software STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard, Stephens, & Donnelly, 2000) y el Análisis de Correspondencias con GENETIX 4,05 (Belkhir *et al.*, 1996–2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectaron 128 alelos en los 14 microsatélites analizados variando entre 5 y 14 alelos por loci, siendo OarFCB20, DYMS1 y MCM140 los más polimórficos.

Tabla I. Parámetros de diversidad genética de los 14 microsatélites en Ovinos Criollos de Pelo Colombiano, Abisinio, Sudán y Etíope (*Genetic diversity parameters of 14 microsatellites in Colombian Creole sheep hair Abisinio, Sudán and Etíope*).

Locus	Nº Alelos	PIC	HW
<i>BM1824</i>	5	0,61	NS
<i>BM1825</i>	8	0,75	NS
<i>DYMS1</i>	13	0,80	NS
<i>HUU616</i>	9	0,53	***
<i>ILSTS011</i>	5	0,70	NS
<i>MCM140</i>	11	0,78	NS
<i>OarAE129</i>	6	0,70	***
<i>OarcP38</i>	7	0,73	NS
<i>OarFCB20</i>	14	0,87	NS
<i>OarFCB304</i>	9	0,55	NS
<i>OarHH47</i>	11	0,85	NS
<i>OarJMP58</i>	11	0,82	NS
<i>OarFCB193</i>	10	0,69	***
<i>OarVH72</i>	9	0,79	NS

Nº Alelos: Número de alelos. PIC: Contenido de información polimórfica. H-W: desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg NS: no significativa desviación, *** desviación significativa a ($P < 0,05$).

El marcador OarFCB20 ha sido previamente reportado como uno de los más polimórficos, en la raza ovina Aragonesa (10 alelos) (Arruga *et al.*, 2001) y en ovinos turcos (20 alelos) (Yilmaz *et*

al., 2015) así como el DYMS1 en razas ovinas nativas de Portugal (13 alelos) (Santos-Silva et al., 2008) y en la raza Merino (20 alelos) (Dukkipati et al., 2010). Todos los marcadores presentaron un PIC > 0,5, por lo que se considera que son altamente informativos; 11 de los 14 loci analizados se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg (tabla I). Los valores de heterocigosis esperada fueron muy similares en las tres poblaciones (≈0,72), mientras que la heterocigosis observada varió entre 0,65 en la población Abisinio y 0,70 y 0,72 en la población Etíope y Sudán respectivamente (tabla II).

Tabla II. Parámetros de diversidad genética de Ovinos Criollos de Pelo Colombiano, Abisinio, Sudán y Etíope (Genetic diversity parameters of Colombian Creole sheep hair Abisinio, Sudán and Etíope)

	<i>He</i>	<i>Ho</i>
<i>Sudán</i>	0,71	0,70
<i>Etíope</i>	0,72	0,72
<i>Abisinio</i>	0,71	0,65

He: Heterocigosis esperada. Ho: Heterocigosis observada.

Los valores de heterocigosis observada encontrados son similares a los reportados en el trabajo de Ocampo (2014), pero son bajos en relación con los valores encontrados mediante asignación alelica manual por Vivas (2013) para los mismos tipos raciales. La matriz de distancias F_{ST} , el análisis factorial de correspondencia (figura 1) y los resultados obtenidos con el programa STRUCTURE mostraron una misma tendencia caracterizada por una escasa diferenciación genética entre las poblaciones Abisinio y Etíope y algo mayor de la población Sudán respecto a las otras dos (tabla III), corroborando la poca diferenciación fenotípica que se observa entre ellas.

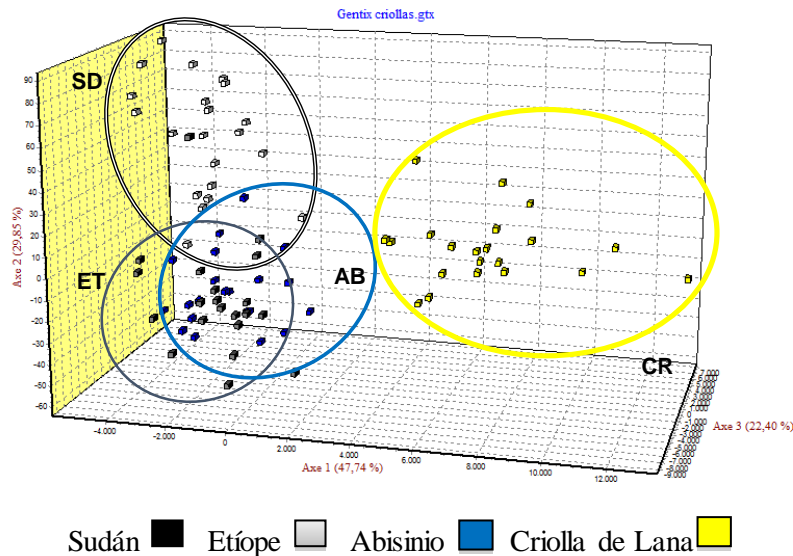


Figura 1. Análisis de Correspondencias de Ovinos Criollos de Pelo Colombiano, Abisinio, Sudán y Etíope. CR: Criolla Colombiana de Lana, población control. (Correspondence analysis of Colombian Creole sheep hair Abisinio, Sudán and Etíope. CR: Colombian Creole of Wool, control population).

Esto puede ser debido al flujo de genes principalmente entre Etíope y Abisinio, dado que se encuentran geográficamente muy cercanas, posiblemente a su origen común y a que no existe control de los cruzamientos entre los individuos en las granjas ovinas debido a que la mayoría de los sistemas de producción de ovinos criollos de pelo colombianos son artesanales y tradicionales.

Tabla III. Proporción media del genoma de las poblaciones Abisinio, Sudán y Etíope asignado a tres clusters predefinidos (*Average genome ratio of the Abyssinian, Sudan and Ethiopian populations assigned to three predefined clusters*)

	Clusters Predefinidos		
	1	2	3
Abisinio	0,437	0,410	0,153
Etíope	0,451	0,446	0,104
Sudán	0,251	0,227	0,472

CONCLUSIONES

Se considera que el nivel de variabilidad genética estimado mediante los 14 microsatélites autosómicos en los Ovinos Criollos de Pelo Colombiano, Sudán, Etíope y Abisinio, es importante para tenerlo en cuenta para programas de mantenimiento, mejora y conservación de estos núcleos. Se evidenció la existencia de una escasa diferenciación genética entre las poblaciones de Ovinos Criollos de Pelo Colombiano, especialmente entre Abisinio y Etíope y un poco mayor con Sudán. Es necesario destacar la importancia de este recurso genético principalmente en zonas rurales y en zonas de concentración de pobreza por el importante papel económico que cumplen para los pequeños productores quienes han logrado mantener estas poblaciones con poco apoyo de las asociaciones y/o estímulos de tipo gubernamental.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a COLCIENCIAS la financiación del proyecto “*Caracterización e identificación genética de ovinos adaptados al trópico colombiano mediante la estandarización y aplicación de genotipificación y secuenciación automatizada en la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la UNAL sede Bogotá*” y a la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Convocatoria del programa nacional de proyectos para el fortalecimiento de la investigación, la creación y la innovación en posgrados de la Universidad Nacional de Colombia 2013-2015 por la financiación del proyecto “*Análisis de la diversidad genética mediante la utilización de marcadores microsatélite autosómicos y evaluación de polimorfismos de nucleótido simple (SNP) de los genes BMP1B, BMP15 y GDF9 asociados a prolificidad en razas ovinas (Ovis aries) adaptadas al trópico alto y bajo colombiano*”.

BIBLIOGRAFÍA

- Arcos, J. A., Romero, H., Vanegas, M. A., & Riveros, E. (2002). Ovinos colombianos de pelo. Alternativa productiva para el sur del departamento del Tolima. Corpoica. Ibagué.
- Arruga, M. V., Monteagudo, L. V., Tejedor, M. T., Barrao, R., & Ponz, R. (2001). Analysis of microsatellites and paternity testing in Rasa Aragonesa sheep. *Research in Veterinary Science*, 70(3), 271–273. <https://doi.org/10.1053/rvsc.2001.0473>.
- Barrios, C. E. (2005). Guía práctica de ovinocultura. Enfocada hacia la producción de carne. Retrieved from http://www.asoovinos.org/archivos/articulos_tecnicos/manual_cria_ovinos_produccion_carne.pdf.
- Bautista O. R. and Salazar Cruz J. J. (1980) African Sheep in Colombia. Retrieved from

- <http://www.fao.org/docrep/004/X6517E/X6517E03.htm#ch2.7>.
- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N. & Bonhomme F. 1996-2004 GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5171, Université de Montpellier II, Montpellier (France). Retrieved from <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.htm>.
- Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-CORPOICA, 2002. Ovinos Colombianos de Pelo, alternativa productiva para el sur del departamento del Tolima, Nataima. pp. 80.
- Delgado, J., & Nogales, S. (2009). Biodiversidad Ovina Iberoamericana. Caracterización y uso sustentable. (J. V. Delgado & S. Nogales, Eds.). Córdoba. Retrieved from http://www.uco.es/conbiand/pdf/biodiversidad_ovina.pdf.
- Dukkipati, V., Blair, H., Garrick, D., Lopez-Villalobos, N., Whittington, R., Reddacliff, L., ... Murray, A. (2010). Association of microsatellite polymorphisms with immune responses to a killed *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis vaccine in Merino sheep. *New Zealand Veterinary Journal*, 58(5), 237–245. <https://doi.org/10.1080/00480169.2010.69154>.
- Espinal, C. F., Covalada, H. M., & Amézquita, J. E. (2006). La cadena ovinos y caprinos en Colombia. Min. Agricultura y Desarrollo Rural, Obs. Agrocadenas Colombia. Bogota. Disponible en:<http://www.agrocadenas.gov.co>.
- Excoffier, L., & Lischer, H. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resour.* 10(3). 564–7. <http://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 33(7). 1870–1874. <http://doi.org/10.1093/molbev/msw054>.
- Montoya, 1957 Montoya, R., 1957. Estudio sobre la oveja Africana. Tesis de grado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Moreno, D. C. (2013). Nivel de desarrollo tecnológico de los sistemas de producción ovinos y caprinos en las regiones Centro, Norte y Valles Interandinos de Colombia. Tesis de Maestría Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia- Sede Bogotá.
- Nei, M., & Saitou, N. (1987). The Neighbor-joining Method: A New Method for reconstructing Phylogenetic Trees'. *Molecular Biology and Evolution*. 4(4). 406–425. <http://doi.org/citeulike-article-id:93683> .
- Peakall, R. and Smouse P.E. (2012) GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.
- Pritchard, J. K., StepHens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 155. 945–959.
- Ocampo, R. (2014). Caracterización Genética de ovinos en Colombia por medio de Marcadores Microsatélites. Tesis de Maestría, Universidad de Antioquia.
- Rodero A., Delgado J.V. y Rodero E. (1992). Primitive andalusian livestock and their Implications in the discovery of America. *Arch. Zootec. (extra)*:383-400.
- Santos-Silva, F., Ivo, R. S., Sousa, M. C. O., Carolino, M. I., Ginja, C., & Gama, L. T. (2008). Assessing genetic diversity and differentiation in Portuguese coarse-wool sheep breeds with microsatellite markers. *Small Ruminant Research*, 78(1–3), 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.04.006>.
- Slate, J., Marshall, T., & Pemberton, J. (2000). A retrospective assessment of The accuracy of The paternity inference program CERVUS. *Molecular Ecology*. 9(6). 801–808.
- Vega P. C.A., Grajales L. H. A., Afanador T. G.. Prácticas ganaderas en sistemas de producción en ovinos y caprinos. *Rev. Cienc. Anim.* n.º 8. 2014 <https://revistas.lasalle.edu.co/index.php/ca/article/view/2794/2541>
- Vivas, N. J. (2013). Diversidad Genética De Ovinos Criollos Colombianos. Tesis de maestría, Universidad Nacional de

Colombia- Sede Palmira.

Yilmaz, O., Sezenler, T., Sevim, S., Cemal, İ., Karaca, O., Yaman, Y., & Karadağ, O. (2015). Genetic relationships among four Turkish sheep breeds using microsatellites. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39, 576–582. <https://doi.org/10.3906/vet-1411-46>.