

Diversidad genética en burros criollos de México

Genetic diversity in Mexican creole donkeys

Joel Domínguez-Viveros^{1,*}, Felipe Alonso Rodríguez-Almeida², David Alonso-Alcalá², Carlos Barreda-Elizondo², Juan Manuel Ramírez-Reyes¹, Efreén García-Robles¹, Guadalupe Nelson Aguilar-Palma¹

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo evaluar la diversidad genética del burro criollo mexicano con marcadores genéticos de tipo SNP. Se muestreó aleatoriamente a 16 individuos (ocho machos y ocho hembras) y el genotipado se hizo con el chip GGP Equine 70K (71 947 loci). Dentro de cromosoma se identificaron los SNP polimórficos, determinándose la heterocigosis esperada (H_e) y observada (H_o), contenido de información polimórfica (CIP), el índice de fijación (FIS) y el equilibrio (HW) Hardy-Weinberg. El desequilibrio de ligamiento se evaluó con base en la correlación (r^2) entre frecuencias a través de locus. Se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) y un estudio de agrupamiento para inferir el número de cluster (k). Se encontró que 3579 loci (4.9%) presentaron variabilidad genética, pero el 24.9% presentó desequilibrio HW ($p < 0.05$). A través de cromosomas, el número de loci polimórficos osciló de 50 a 269 con un promedio de 115. Los promedios (dentro de cromosoma) para PIC y FIS fluctuaron de 0.222 a 0.267 y de -0.392 a -0.208, respectivamente. En todos los cromosomas H_o fue superior a H_e . Para r^2 , los valores promedio dentro de cromosoma fueron superior a 0.10; el k óptimo correspondió a 2. En el AMOVA, la variabilidad genética dentro de individuos explicó el 67%. Los SNP identificados como polimórficos, conforman un primer panel de marcadores genéticos para el burro criollo mexicano, y la variabilidad genética estimada puede ser utilizada en esquemas de desarrollo y conservación.

Palabras clave: marcador genético, AMOVA, equilibrio Hardy-Weinberg, desequilibrio ligamiento, heterocigosis

¹ Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, México

² Asociación Mexicana de Criadores de Burros y Mulas, Saltillo, Coahuila, México

* E-mail: jodominguez@uach.mx – joeldguezviveros@yahoo.com.mx

Recibido: 2 de enero de 2022

Aceptado para publicación: 11 de julio de 2022

Publicado: 31 de agosto de 2022

©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

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the genetic diversity of the Mexican criollo donkey with SNP-type genetic markers. Sixteen individuals (eight males and eight females) were randomly sampled and genotyped using the GGP Equine 70K chip (71 947 loci). Within chromosome the polymorphic SNPs were identified, determining the expected (H_e) and observed (H_o) heterozygosity, polymorphic information content (PIC), the fixation index (FIS) and the Hardy-Weinberg equilibrium (HW). Linkage disequilibrium was assessed based on the correlation (r^2) between frequencies across loci. An analysis of molecular variance (AMOVA) and a cluster study were performed to infer the number of clusters (k). It was found that 3579 loci (4.9%) presented genetic variability, but 24.9% presented HW disequilibrium ($p < 0.05$). Across chromosomes, the number of polymorphic loci ranged from 50 to 269 with a mean of 115. The (within chromosome) means for PIC and FIS ranged from 0.222 to 0.267 and -0.392 to -0.208, respectively. In all chromosomes H_o was superior to H_e . For r^2 , the mean values within chromosome were greater than 0.10; the optimal k corresponded to 2. In the AMOVA, the genetic variability within individuals explained 67%. The SNPs identified as polymorphic make up a first panel of genetic markers for the Mexican creole burro, and the estimated genetic variability can be used in development and conservation schemes.

Key words: genetic marker, AMOVA, Hardy-Weinberg equilibrium, linkage disequilibrium, heterozygosity

INTRODUCCIÓN

Para el burro o asno doméstico (*Equus asinus*) se han desarrollado varias teorías sobre sus orígenes. Un planteamiento consideró que desciende del onager asiático (*Equus hemionus*), del asno de Nubia (*Equus asinus africanus*) como ancestro de la raza Andaluza, o del asno somalí (*Equus asinus somaliensis*) que dio origen a los burros del sudoeste de Asia y algunas razas europeas, así como del *Equus asinus europeus* cuya área de origen es la cuenca mediterránea, dando origen a la mayoría de los burros europeos (Aranguren-Méndez *et al.*, 2001; Beja-Pereira *et al.*, 2004; Kimura *et al.*, 2011).

El burro fue introducido al continente americano en el siglo XVI, y durante la colonia se distribuyó en todo México, asociado a labores agrícolas, de carga y transporte. Por sus orígenes es considerado como criollo, y es parte de la cultura y costum-

bres de ciertas regiones del país; no obstante, la cría y explotación de los híbridos (mulas y burdéganos) tuvo un impacto similar o de mayor trascendencia (Álvarez-Romero *et al.*, 2008). Las poblaciones ferales descienden de burros domésticos liberados o escapados y se localizan en varias zonas fuera de su área de distribución original (García, 1994; Álvarez-Romero *et al.*, 2008). La Asociación Mexicana de Criadores de Burros y Mulass (AMCBM) se constituyó con el objetivo de promover la cría, conservación y mejoramiento genético del burro criollo mexicano (BCM), al cual denominaron Burro Mixteco, como una raza de origen mexicano (AMCBM, 2018).

La diversidad genética es la base para satisfacer las necesidades de producción en diversos entornos, programas de conservación, esquemas de mejoramiento genético sostenible y adaptación de las poblaciones a los cambios en los objetivos de producción a través de ambientes (Alderson, 2018). El manejo efectivo de los recursos genéticos y el análisis de los componentes de diversidad genética son parte

de las áreas estratégicas prioritarias del plan global de acción para los recursos zoogenéticos, y que fueron definidas en la Conferencia Técnica Internacional sobre los Recursos Zoogenéticos para la Agricultura y la Alimentación, realizada en Interlaken, Suiza y promovida por la FAO (FAO, 2007). El objetivo del presente estudio fue evaluar la diversidad genética en BCM con marcadores genéticos de tipo SNP (Polimorfismo de Nucleótido Único). El estudio proporciona las bases para definir el panel de marcadores genéticos a utilizar en la caracterización, pruebas genéticas y desarrollo de la población del BCM.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se muestreó a 16 individuos (ocho machos y ocho hembras) susceptibles de registro en la AMCBM sin verificar niveles de parentesco. Las muestras de sangre fueron remitidas al laboratorio de Neogen GeneSeek (USA). Los genotipos analizados conforman el chip GGP Equine 70K (71 947 loci). Dentro de los cromosomas (30 autosómicos y uno sexual), se identificaron los SNP polimórficos donde la frecuencia del alelo menor (FAM) fue igual o mayor a 0.01. Con base a las frecuencias alélicas se estimó la heterocigosis esperada (H_e) y observada (H_o), contenido de información polimórfica (CIP) y el índice de fijación (FIS) y equilibrio (HW) Hardy-Weinberg (Nei y Chesser, 1983; Nei, 1987; Weir, 1996). Los niveles de H_e , H_o y CI determinan si un marcador genético es o no informativo y su potencial de uso en estudios de variabilidad genética. El estadístico FIS mide la reducción de heterocigosis y es una medida del grado de endogamia en una población. El posible desequilibrio de ligamiento (DL) se evaluó con base en la correlación (r^2) entre frecuencias a través de locus (Waples, 2006). El r^2 fluctúa de cero a uno, donde valores alrededor de cero indican ausencia de DL y segregación independiente y conforme aumenten hacia la unidad es suposición de asociación no aleatoria entre locus.

Para identificar componentes de varianza entre grupos y dentro de grupos, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA). Los análisis genéticos y estadísticos se realizaron con los programas GenAlex 6.051 (Peakall y Smouse, 2012) y FSTAT (Goudet, 1995). Para determinar la posible estructura dentro de la población se realizó el estudio de agrupamiento bayesiano con el software Structure (Pritchard *et al.*, 2000) para inferir el número de genotipos o clusters (k) apropiados. Se evaluaron cinco niveles a partir del análisis de genotipos utilizando múltiples loci ($k=1$ a $k=5$) y los individuos fueron asignado probabilísticamente a los grupos (k). La selección del k ajustado se realizó con base al valor óptimo descrito por Evanno *et al.* (2005), calculado con el software online Structure Harvester (Earl y vonHolt, 2012).

RESULTADOS

De los SNP evaluados, 3579 loci (4.9%) presentaron variabilidad genética donde la FAM fue superior a 0.29; además, el 24.9% presentó desequilibrio HW ($p < 0.05$). Según el cromosoma (Cuadro 1), el número de loci polimórficos osciló de 50 a 269 con un valor promedio de 115. Los valores promedio (dentro de cromosoma) para CIP y FIS fluctuaron entre 0.222 y 0.267 y de -0.392 a -0.208, respectivamente. En todos los cromosomas el valor de H_o fue superior a H_e y el signo negativo de FIS señala gran cantidad de heterocigotos.

Con relación al DL, los valores promedio de r^2 dentro de cromosoma fueron superior a 0.10; no obstante, se observan r^2 superiores a 0.50, lo cual señala que algunos loci presentan DL y deben de ser analizados a detalle. En la Figura 1 se presentan los resultados para el análisis de estructura de la población, donde el K óptimo correspondió a 2, con una contribución genética promedio de 63.1% y 36.9%. En las imágenes, cada columna pertenece a un individuo evaluado y la longitud de los distintos colores definen la

Cuadro 1. Número de SNP polimórficos e indicadores de variabilidad genética a través de cromosomas

Cr	n	HW	PIC	Ho	He	FIS	r ²	r ²⁺
1	269	66	0.244	0.451	0.306	-0.319	0.125	0.90
2	183	44	0.238	0.451	0.298	-0.339	0.112	0.87
3	180	47	0.264	0.503	0.333	-0.370	0.132	0.88
4	163	40	0.247	0.441	0.307	-0.298	0.129	0.88
5	130	41	0.240	0.473	0.302	-0.366	0.101	0.86
6	125	37	0.249	0.475	0.311	-0.349	0.114	0.88
7	150	40	0.258	0.492	0.324	-0.364	0.127	0.78
8	187	43	0.244	0.446	0.304	-0.316	0.138	0.84
9	130	23	0.235	0.418	0.291	-0.279	0.133	0.88
10	124	27	0.226	0.402	0.278	-0.289	0.134	0.85
11	94	19	0.223	0.377	0.274	-0.245	0.132	0.77
12	50	13	0.251	0.460	0.315	-0.312	0.138	0.76
13	79	20	0.255	0.468	0.320	-0.328	0.132	0.81
14	123	44	0.267	0.513	0.339	-0.362	0.128	0.84
15	126	30	0.241	0.434	0.302	-0.286	0.111	0.81
16	103	18	0.237	0.408	0.294	-0.242	0.119	0.88
17	123	25	0.246	0.446	0.306	-0.307	0.139	0.88
18	117	31	0.242	0.480	0.303	-0.392	0.114	0.75
19	102	30	0.260	0.474	0.325	-0.320	0.139	0.81
20	118	21	0.239	0.390	0.298	-0.208	0.113	0.81
21	99	28	0.239	0.443	0.298	-0.324	0.126	0.75
22	74	16	0.231	0.451	0.289	-0.353	0.122	0.77
23	81	19	0.266	0.500	0.336	-0.361	0.130	0.76
24	78	20	0.231	0.417	0.285	-0.287	0.123	0.75
25	79	19	0.230	0.401	0.284	-0.243	0.119	0.77
26	55	17	0.257	0.502	0.326	-0.383	0.123	0.75
27	61	15	0.235	0.458	0.296	-0.354	0.105	0.75
28	76	28	0.261	0.504	0.329	-0.362	0.140	0.86
29	58	14	0.248	0.471	0.312	-0.335	0.126	0.75
30	55	12	0.245	0.435	0.306	-0.289	0.133	0.81
x	187	46	0.222	0.395	0.273	-0.269	0.148	0.88

Cr, cromosoma; N, número de loci polimórficos; HW, número de loci que presentaron desequilibrio ($p < 0.05$) Hardy Weinberg; PIC, valor promedio del contenido de información polimórfica; Ho, valor promedio de la heterocigosis observada; He, valor promedio de la heterocigosis esperada; FIS, valor promedio del estadístico FIS; r², valor promedio de la correlación entre frecuencias a través de locus; r²⁺, valor máximo de las correlaciones entre frecuencias a través de locus

Cuadro 2. Resultado del análisis de varianza molecular

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Estadísticos F	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	2	2447.1	1223.5	FST = 0.022	2
Entre individuos	13	13446.1	1034.3	FIS = 0.319	31
Dentro de individuos	16	8550.0	534.3	FIT = 0.334	67
Total	31	24443.2			100

proporción de los genomas o *cluster* identificados. El análisis de varianza molecular (Cuadro 2) expuso que la variabilidad genética dentro de individuos explicó el 67% de la varianza genética total.

DISCUSIÓN

Se han reportado resultados diversos para la eficiencia en el uso de chips, a través de razas y de especies. McCue *et al.* (2012) con base en el Equine SNP 50k determinó en 14 razas de caballos que el porcentaje de SNP con información polimórfica fluctuó de 68 a 87%; no obstante, en 18 especies del género *Equus* el porcentaje de locus con al menos un heterocigoto fluctuó de 0.518 a 1.56.

Con el objetivo de diseñar un panel para pruebas genéticas en burros, se identificaron los 101 SNP propuestos por Holl *et al.* (2017), de los cuales solo cuatro presentaron CIP. Con relación a estudios sobre el origen y domesticación del asno, Rosenbom *et al.* (2015) utilizando un panel de microsatélites analizaron poblaciones de ocho países del noreste de África y Asia occidental, señalando como principal población de origen al asno del noreste de África (*Equus africanus africanus*); sin embargo, identificaron una fuente de variación genética alterna en la población de Yemen, que puede ser asociada a la domesticación del asno. Beja-Pereira *et al.* (2004)

con ADN mitocondrial y muestras de 52 países identifican dos grupos divergentes en el árbol filogenético señalando como ancestros al *Equus hemionus* y *Equus kiang* para un grupo, así como el *Equus asinus somaliensis* y el *Equus africanus* para otro grupo. Por otro lado, Kimura *et al.* (2011) describen las aportaciones del *Equus africanus africanus* y el *Equus africanus somaliensis* al proceso de domesticación y divergencia genética de las poblaciones actuales.

Las poblaciones de ganado criollo en América Latina procedentes de la península Ibérica han evolucionado en ambientes diversos y adversos, lo que sugiere que poseen genes para adaptación en frecuencias distintas a las poblaciones de origen (Núñez-Domínguez *et al.* 2016). Jordana *et al.* (2012) evaluando poblaciones de 11 países de América y razas europeas de asnos, reportaron que la estructura de la población fue definida por dos *cluster* ($k=2$). Asimismo, indican que el limitado flujo de animales entre Europa y América ha permitido una progresiva diferenciación genética de las poblaciones asnales americanas; incluso una separación entre poblaciones de centro y sur América. El BCM está en el marco de las poblaciones criollas procedentes de la península Ibérica, donde el análisis de estructura de población reveló que la variabilidad genética es producto de dos genotipos o *cluster* (Figura 1). En la península Ibérica se encuentran definidas cinco razas: Andaluza, Catalán, Encartaciones,

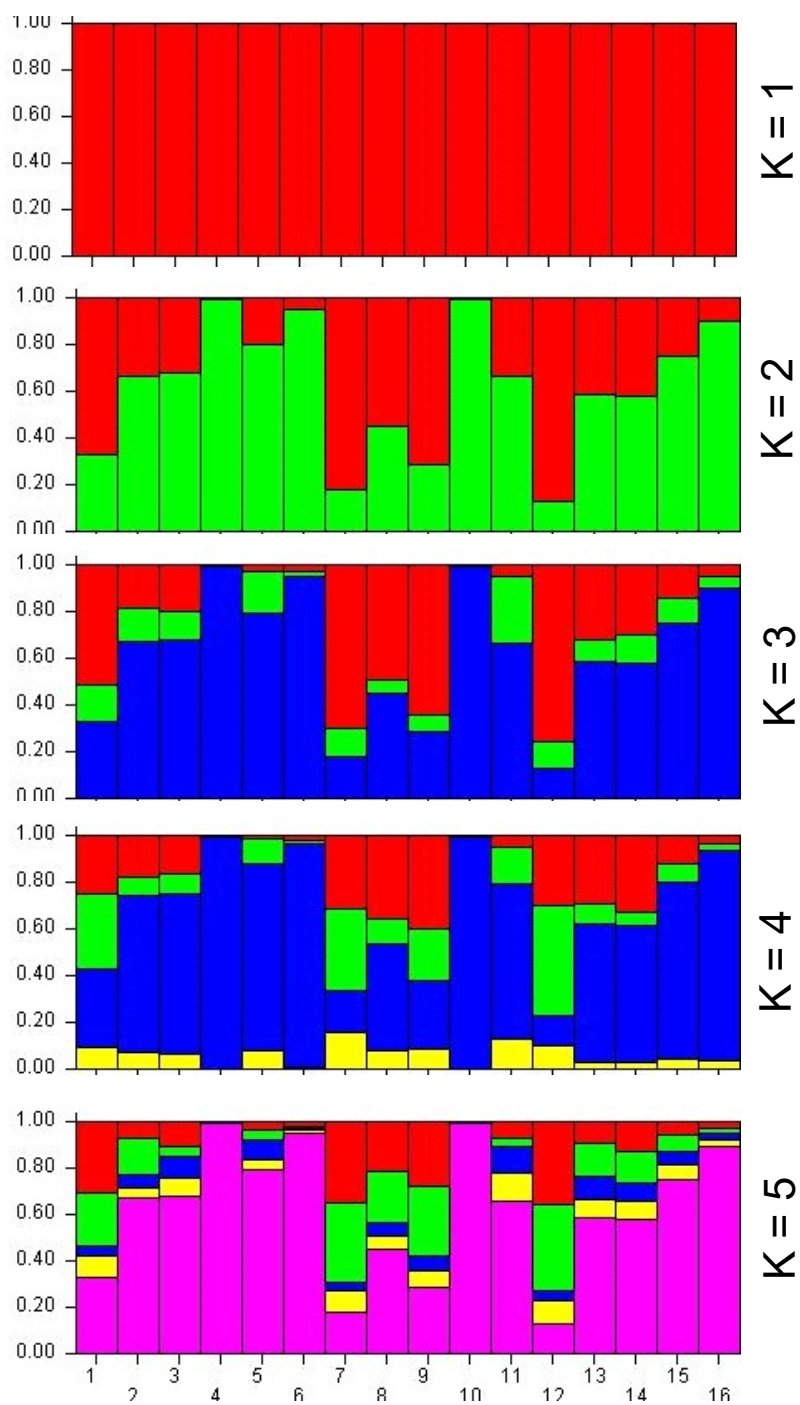


Figura 1. Resultados para la estructura genética de la población de 16 burros analizada (K, número de cluster evaluados) con el software Structure (Pritchard *et al.*, 2000)

Zamorano y Mallorquina (Rodero *et al.*, 1998)). Al respecto, Aranguren-Méndez *et al.* (2001) con microsatélites desarrollados para pruebas genéticas en equinos evaluaron la diversidad genética de estas razas como ancestrales del BCM, reportando niveles para Ho y CIP de 0.528 a 0.570 y de 0.20 a 0.80, respectivamente.

En otros estudios afines, Ivankovic *et al.* (2002) en tres razas asnales de Croacia, señalan que el 2.7% de la variabilidad se atribuyó a diferencias entre poblaciones y el 97% a diferencias dentro de individuos. Yun y Cho (2017) en asnos nativos de Corea del Sur reportaron niveles de Ho y CIP en los intervalos de 0.20 a 0.88 y de 0.22 a 0.89, respectivamente, en tanto que Zeng *et al.* (2019) en 12 razas de asnos en China, reportaron que la estructura de la población fue conformada por dos líneas o cluster, además los resultados para Ho y FIS oscilaron de 0.54 a 0.59 y de 0.03 a 0.14, respectivamente.

CONCLUSIONES

Los SNP identificados como polimórficos, conforman un primer panel de marcadores genéticos para el burro criollo mexicano; con aplicaciones para próximos estudios relativos a genómica (identidad racial, paternidad, distancias genéticas, huellas de selección, entre otros). Por otro lado, la variabilidad genética estimada puede ser utilizada en esquemas de desarrollo y conservación de la población.

Agradecimientos

Se agradece a la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua, así como a la Asociación Mexicana de Criadores de Burros y Mulas, por el financiamiento y respaldo para el desarrollo del presente estudio.

LITERATURA CITADA

1. **Alderson GLH. 2018.** Conservation of breeds and maintenance of biodiversity: justification and methodology for the conservation of animal genetic resources. *Arch Zootec* 67: 300-309. doi: 10.21071/az.v67i258.3668
2. **Álvarez-Romero JG, Medellín RA, Oliveras de Ita A, Gómez de Silva H, Sánchez O. 2008.** Animales exóticos en México: una amenaza para la biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México: Instituto de Ecología, UNAM. 518 p.
3. **AMCBM. 2018.** Reglamento Técnico de la Asociación Mexicana de Criadores de Burros y Mulas. Asociación Mexicana de Criadores de Burros y Mulas. Saltillo Coahuila, México.
4. **Aranguren-Méndez J, Jordana J, Gómez M. 2001.** Genetic diversity in Spanish donkey breeds using microsatellite DNA markers. *Genet Sel Evol* 33: 433-442. doi: 10.1186/1297-9686-33-4-433
5. **Beja-Pereira A, England PR, Ferrand N, Jordan S, Bakhiet AO, Abdalla MA, Maskour M, Jordana J, Taberlet P, Luikart G. 2004.** African origin of the domestic donkey. *Science* 304: 1780-1781. doi: 10.1126/science.1096008
6. **Earl DA, vonHoldt BM. 2012.** Structure Harvester: a website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour* 4: 359-361. doi: 10.1007/s12686-011-9548-7
7. **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. doi: 10.1111/j.1365-294x.2005.02553.x
8. **[FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2007.** Plan de acción mundial sobre los recursos zoogenéticos y la

- declaración de Interlaken. Roma, Italia: FAO. [Internet]. Disponible en: <https://www.fao.org/publications/card/es/c/A1404S/>
9. **García MB. 1994.** Los primeros pasos del ganado en México. *Relaciones. Estudios de historia y sociedad* 59: 11-35.
 10. **Goudet J. 1995.** FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-statistics. *J Hered* 86: 485-486. doi: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a111627
 11. **Holl HM, Vanhnasy J, Everts RE, Hoefs-Martin K, Cook D, Brooks SA, Carpenter ML, et al. 2017.** Single nucleotide polymorphisms for DNA typing in the domestic horse. *Anim Genet* 48: 669-676. doi: 10.1111/age.12608
 12. **Ivankovic A, Kavar T, Caput P, Mioc B, Pavic V, Dovec P. 2002.** Genetic diversity of three donkey populations in the Croatian coastal region. *Anim Genet* 33: 169-177. doi: 10.1046/j.1365-2052.2002.00879.x
 13. **Jordana J, Ferrando A, Casas M, Loarca A, Martínez-López OR, Canelón JL, Stemmer A, et al. 2012.** Diversidad y relaciones genéticas entre poblaciones asnales Iberoamericanas. *Actas Iberoamer Conserv Anim* 2: 207-213.
 14. **Kimura B, Marshall FB, Chen S, Rosenbom S, Moehlman PD, Tuross N, Sabin RC, et al. 2011.** Ancient DNA from Nubian and Somali wild ass provides insights into donkey ancestry and domestication. *P R Soc B* 278: 50-57. doi: 10.1098/rspb.2010.0708
 15. **McCue ME, Bannasch DL, Petersen JL, Gurr J, Bailey E, Binns MM, Distl O, et al. 2012.** A high-density SNP array for the domestic horse and extant Perissodactyla: utility for association mapping, genetic diversity, and phylogeny studies. *Plos Genet* 8: e1002451. doi: 10.1371/journal.pgen.1002451
 16. **Nei M. 1987.** *Molecular evolutionary genetics.* New Yprk, USA: Columbia University Press. 514 p.
 17. **Nei M, Chesser RK. 1983.** Estimation of fixation indices and gene diversities. *Ann Hum Genet* 47: 253-259. doi: 10.1111/j.1469-1809.1983.tb00993.x
 18. **Núñez-Domínguez R, Ramírez-Valverde R, Saavedra-Jiménez LA, García-Muñiz JG. 2016.** Adaptability of criollo's genetic resources, as a base to meet animal production challenges. *Arch Zootec* 65: 461-468. doi: 10.21071/az.v65i251.717
 19. **Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000.** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959. doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x
 20. **Rodero E, Varela M, Herrera M, Gómez M, Galisteo J. 1998.** Present situation of the autochthonous donkey population in Spain. *Arch Zootec* 47: 523-528.
 21. **Rosenbom S, Costa V, Al-Araimi N, Kefena E, Abdel-Moneim AS, Abdalla MA, Bakhiet A, et al. 2015.** Genetic diversity of donkey populations from the putative centers of domestication. *Anim Genet* 46:30-36. doi: 10.1111/age.12256
 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. **Yun S, Cho G. 2017.** Molecular genetic diversity of donkey (*Equus asinus*) in South Korea. *BioRxiv* 2017: e213520. doi: 10.1101/213520
 24. **Waples RS. 2006.** A bias correction for estimate of effective population size base on linkage disequilibrium at unlinked loci. *Conserv Genet* 7: 167-184. doi: 10.1007/s10592-005-9100-y
 25. **Weir BS. 1996.** *Genetic data analysis II: methods for discrete population genetic data.* Sunderland, MA: Sinauer Associates. 445 p.
 26. **Zeng L, Dang R, Dong H, Li F, Chen H, Lei C. 2019.** Genetic diversity and relationships of Chinese donkeys using microsatellite markers. *Arch Anim Breed* 62: 181-187. doi: 10.5194/aab-62-181-2019