



Archivos de Zootecnia

ISSN: 0004-0592

archivoszootecnia@uco.es

Universidad de Córdoba

España

Isaza, J.V.; López, A.; Echeverri, J.J.

Análisis poblacional del ganado Holstein de Antioquia a partir de un polimorfismo del gen
POU1F1

Archivos de Zootecnia, vol. 66, núm. 254, 2017, pp. 215-221

Universidad de Córdoba

Córdoba, España

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49553570008>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Análisis poblacional del ganado Holstein de Antioquia a partir de un polimorfismo del gen POU1F1

Isaza, J.V.®; López, A. y Echeverri, J.J.

Grupo BIOGEM. Departamento de Producción Animal. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. Colombia.

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue analizar la estructura y diferenciación genética de una población de vacas Holstein de Antioquia a partir de un polimorfismo del gen POU1F1. Para esto se genotipificó mediante la técnica PCR-RFLP 503 vacas Holstein de 15 hatos ubicados en 7 municipios del departamento de Antioquia. Los parámetros de estructura, diversidad genética y número de migrantes se determinaron utilizando el software GenAlex versión 6.5. El fragmento amplificado de 451 pb presentó un sitio de corte para la enzima *HinfI*, generando un fragmento para el alelo A y dos fragmentos para el alelo B. Las frecuencias alélicas fueron 0,213 para el alelo A y 0,787 para el alelo B. Las frecuencias genotípicas fueron 0,029, 0,368 y 0,603 para AA, AB y BB, respectivamente. La heterocigosidad observada, 0,368, y la esperada, 0,334, presentaron diferencias significativas, indicando un exceso de heterocigotos, por lo cual la población no se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg. Los valores de FST, FIS y FIT fueron 0,002, -0,103 y -0,100 respectivamente, indicando una baja o nula diferenciación genética entre las subpoblaciones. El número de migrantes encontrado fue de 134,51 individuos por generación. Pese a que las subpoblaciones evaluadas están geográficamente dispersas, el flujo genético ha contrarrestado la deriva genética, permitiendo que estas sean una sola población.

Population analysis of the Holstein cattle from Antioquia based on one polymorphism of the POU1F1 gene

SUMMARY

The objective of this research was to analyze the genetic structure and differentiation of an Antioquian population of Holstein cows based on one polymorphism of the POU1F1 gene. A total of 503 Holstein cows from 15 herds located at 7 municipalities of Antioquia were genotyped using the PCR-RFLP technique. Structure and genetic differentiation parameters and number of migrants were determined with GenAlex 6,5 software. The amplified fragment of 451 bp had one cleavage site for the *HinfI* enzyme, generating one fragment for the A allele and two fragments for the B allele. Allelic frequencies were 0.213 for A and 0.787 for B. The genotype frequencies were 0.029, 0.368 and 0.603 for AA, AB and BB, respectively. The observed (0.368) and expected (0.334) heterozygosity showed significant differences, indicating an excess of heterozygosity, and therefore departure from the Hardy-Weinberg equilibrium. The found values for FST, FIS y FIT were 0.002, -0.103 and -0.100 respectively, indicating little or no genetic differentiation among subpopulations. The estimated number of migrants was 134.51 individuals per generation. Although the subpopulations evaluated are geographically dispersed, genetic flow has counteracted genetic drift, allowing them to be a single population.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

PCR-RFLP.

Equilibrio de Hardy-Weinberg.

Heterocigosidad.

Exogamia.

ADDITIONAL KEYWORDS

PCR-RFLP.

Hardy-Weinberg equilibrium.

Heterozygosity.

Exogamy.

INFORMATION

Cronología del artículo.

Recibido/Received: 23.05.2016

Aceptado/Accepted: 21.12.2016

On-line: 15.04.2017

Correspondencia a los autores/Contact e-mail:

josevisaza@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La estructura genética de una población está dada por las diferencias en las frecuencias alélicas de las subpoblaciones que la conforman y por la diferencia alélica presente dentro de una población. Las frecuencias alélicas para un gen determinado se pueden ver

afectadas por diferentes fuerzas evolutivas; entre ellas se encuentra la mutación, la deriva genética y la selección natural o artificial, las cuales aumentan la diferenciación genética entre las poblaciones. Por el contrario, el flujo genético o migración, está encargado de mantener la homogeneidad genética entre las poblaciones (Eguiarte *et al.*, 2010).

En los sistemas de producción de leche de los países en desarrollo, incluyendo las ganaderías de Antioquia, se han comenzado a implementar programas de mejoramiento genético con el fin de mejorar el volumen y calidad de la leche producida (Muasya *et al.*, 2013). Sin embargo, dichos programas de mejoramiento, se fundamentan en la importación de material genético de individuos con características superiores (semen, embriones), provenientes de poblaciones que poseen una baja variabilidad genética, condición que puede generar en las poblaciones del departamento, la reducción de su propia variabilidad, condicionando de esta manera la sostenibilidad de los programas de mejoramiento debido a la limitación de material genético (Muasya *et al.*, 2013).

Desde hace algunas décadas la caracterización molecular ha permitido determinar la estructura genética de las poblaciones (Lirón *et al.*, 2002). Inicialmente se utilizaba el grupo sanguíneo y los polimorfismos en las proteínas, sin embargo, estos marcadores han sido reemplazados por marcadores moleculares (Lirón *et al.*, 2002). Un marcador molecular es un sitio en el genoma donde ocurren diferencias en la secuencia de ADN entre los miembros de una misma especie (Deb *et al.*, 2012). Entre estos marcadores moleculares se encuentran los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), los cuales pueden ser identificados mediante la técnica de PCR-RFLP (Vignal *et al.*, 2002).

El factor de transcripción POU1F1 (*Pituitary-specific positive transcription factor 1*) está involucrado en la diferenciación, especialización y control hormonal de lactotrofos, somatotrofos y tirotrofos desde el desarrollo de la pituitaria anterior. Además está involucrado en la activación de los genes de prolactina y hormona del crecimiento al unirse a la secuencia consenso 5'-TAAAT-3' (UniProtKB, 2015). En los bovinos este gen se encuentra ubicado en el cromosoma 1 y está compuesto por 6 exones y 5 intrones (NCBI, 2015). Este gen codifica para una proteína de 291 aminoácidos con un peso molecular aproximado de 33 kDa y posee una región de unión al DNA entre las posiciones 214 y 273 (UniProtKB, 2015).

Para este gen se han reportado varios polimorfismos. Mediante la técnica PCR-SSCP se han detectado dos polimorfismos en el intrón 3, un polimorfismo en el intrón 4 y otro en el intrón 5. Estos polimorfismos fueron relacionados con características de crecimiento y de la calidad de la carcasa en ganadería de carne. Sin embargo, no se encontró asociación entre los alelos del gen y dichas características (Zhao *et al.*, 2004). En el exón 3 se encuentra un SNP que genera el cambio de una prolina por una histidina en la secuencia de aminoácidos. Este SNP se encuentra asociado con la producción de leche y la vida productiva en el ganado bovino (Huang *et al.*, 2008) prolactin (PRL). Otro polimorfismo reportado para este gen es el cambio de una adenina por una guanina en el exón 6 generando una mutación sinonima en la cadena de aminoácidos, este polimorfismo puede ser identificado con la técnica de PCR-RFLP, mediante el corte con la enzima *HinfI*, se pueden identificar dos alelos, A y B (Di Stasio *et al.*, 2002).

Debido a que el gen POU1F1 ha sido relacionado con producción de leche, cantidad de proteína, porcentaje de grasa y algunas características de conformación en diferentes razas de ganado, es posible que este sea un gen candidato para la selección asistida por marcadores moleculares para los programas de mejoramiento genético en el ganado lechero (Aytekin y Boztepe, 2013; Huang *et al.*, 2008) prolactin (PRL).

El objetivo de esta investigación fue determinar la estructura y diferenciación genética de la población de ganado Holstein de Antioquia a partir del polimorfismo del exón 6 del gen POU1F1.

MATERIALES Y MÉTODOS

POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se analizaron 503 vacas de la raza Holstein, que hubiesen tenido mínimo dos partos y datos registrados de producción de leche, porcentaje de proteína y grasa,

Tabla I. Distribución de los individuos analizados por municipio y por hato (Distribution of individuals analyzed sorted by municipality and herd).

Municipio	Individuos/Municipio	Hato	Individuos/Hato
Bello	101	H-1	31
		H-2	25
		H-3	45
Belmira	40	H-4	12
		H-5	28
Enterríos	124	H-6	108
		H-7	16
La Unión	47	H-8	47
Medellín	51	H-9	51
Rionegro	30	H-10	30
San Pedro de los Milagros	110	H-11	27
		H-12	15
		H-13	19
		H-14	19

además de información reproductiva como intervalo entre parto y servicios por concepción. Estos individuos pertenecían a 15 hatos ubicados en 7 municipios del departamento de Antioquia, Colombia; Bello, Belmira, Entreríos, La Unión, Medellín, Rionegro, San Pedro de los Milagros (**tabla I**). La distribución de los animales se presenta en la **tabla I** mostrando que el número de animales evaluados osciló entre 12 y 108 animales por hato.

GENOTIPIFICACIÓN DE LOS ANIMALES

El DNA genómico se obtuvo a partir de células nucleadas de muestras de sangre periférica utilizando la técnica de *Salting Out* modificada (Miller *et al.*, 1988). Para la determinación del genotipo de POU1F1 se utilizó la técnica PCR-RFLP, con la cual se amplificó un fragmento de 451 pb del exón 6 utilizando los primers F: 5'-AAACCATCATCTCCCTTCTT-3' y R: 5'-AATGTACAATGTGCCTTCTGAG-3' (Zhang *et al.*, 2009).

El volumen final de la reacción fueron 25 µl. Se emplearon 2.5 µl de buffer de reacción 10X (200 nM (NH₄)₂SO₄, 750 mM Tris-HCl pH 8.8 a 25°C), 1.5 mM de MgCl₂, 0,5 µM de cada primer, 0,2 mM de cada dNTPs (desoxirribonucleótidos trifosfato), 1 unidad de Taq-DNA polimerasa (Fermentas, California) y 50 ng de DNA genómico como muestra. Las condiciones de la PCR fueron 4 minutos a 94°C para la desnaturalización inicial; 35 ciclos de 94°C por 45 segundos para la desnaturalización del DNA, 53.5°C por 45 segundos para el alineamiento de los primers y 72°C por 1 minutos para la extensión; por último 72°C por 10 minutos para la extensión final (Zhang *et al.*, 2009) which were at

Hardy-Weinberg equilibrium ($P > 0.05$). La digestión del fragmento amplificado se realizó a una temperatura de 37°C durante 3 horas, utilizando un volumen final de 20 µl, con 5 µl de producto de PCR, 5 U de enzima *HinfI* (Fermentas, California) y 2 µl de buffer Tango. El patrón de restricción encontrado para los homocigotos AA fue un fragmento de 451 pb ya que se pierde el sitio reconocimiento de la endonucleasa, para los homocigotos BB fue un fragmento de 244 pb y otro de 207 pb, mientras que para los individuos heterocigotos AB se encontraron tres fragmentos de 451, 244 y 207 pb. Los fragmentos de digestión se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2,5%.

ANÁLISIS DE ESTRUCTURA Y DIFERENCIACIÓN POBLACIONAL

Las frecuencias alélicas se determinaron mediante las fórmulas

$$f_A = N_A/2N \text{ y } f_B = N_B/2N$$

Donde N_A y N_B son el número de alelos A y B en la población y N es el número de individuos.

Las frecuencias genotípicas se determinaron con las fórmulas

$$f_{AA} = N_{AA}/N, f_{AB} = N_{AB}/N \text{ y } f_{BB} = N_{BB}/N$$

Donde N_{AA} , N_{AB} y N_{BB} son el número de individuos con los genotipos AA, AB y BB (Nielsen y Slatkin, 2013).

La diferenciación genética se determinó mediante la comparación de la heterocigosidad observada (H_o)

Tabla II. Frecuencias alélicas y genotípicas y heterocigosidad esperada (H_e) para el polimorfismo del gen POU1F1 en una población de vacas Holstein ubicadas en diferentes municipios del departamento de Antioquia (Allelic and genotypic frequencies and expected heterozygosity (H_e) for the polymorphism of the POU1F1 gene in a Holstein cow population located in different municipalities of the department of Antioquia).

Población	POU1F1	N	Genotipos (N)			Frecuencia genotípica			Frecuencia alélica		Prueba chi-cuadrado			
			AA	AB	BB	AA	AB	BB	A	B	H_o	H_e	χ^2	Valor p
Bello	Observado	101	5	40	56	0,062	0,410	0,527	0,248	0,752	0,396	0,373	0,403	0,526
	Esperado		6,188	37,624	57,188	0,061	0,373	0,566						
Belmira	Observado	40	1	12	27	0,022	0,328	0,648	0,175	0,825	0,300	0,289	0,061	0,805
	Esperado		1,225	11,550	27,225	0,031	0,289	0,681						
Entreríos	Observado	124	3	55	66	0,034	0,402	0,563	0,246	0,754	0,444	0,371	4,752	0,029*
	Esperado		7,502	45,996	70,502	0,061	0,371	0,569						
La Unión	Observado	47	0	20	27	0,00	0,443	0,556	0,213	0,787	0,426	0,335	3,433	0,064
	Esperado		2,128	15,745	29,128	0,045	0,335	0,620						
Medellín	Observado	51	1	16	34	0,035	0,261	0,703	0,176	0,824	0,314	0,291	0,321	0,571
	Esperado		1,588	14,824	34,588	0,031	0,291	0,678						
Rionegro	Observado	30	2	5	23	0,084	0,184	0,731	0,150	0,850	0,167	0,255	3,600	0,058
	Esperado		0,675	7,650	21,675	0,023	0,255	0,723						
San Pedro de los Milagros	Observado	110	2	37	71	0,022	0,312	0,664	0,186	0,814	0,336	0,303	1,310	0,252
	Esperado		3,820	33,359	72,820	0,035	0,303	0,662						
Total	Observado	503	14	185	304	0,029	0,368	0,603	0,213	0,787	0,368	0,334	5,216	0,022*
	Esperado		22,549	167,902	312,549	0,045	0,334	0,621						

*Diferencia significativa entre la heterocigosidad esperada y la observada ($p < 0,05$).

y la heterocigosidad esperada (He). El equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) se evaluó con base en las frecuencias genotípicas observadas y esperadas. Ambos parámetros fueron calculados por medio del software GenAlex 6,5 (Peakall and Smouse, 2012).

La estructura poblacional se determinó utilizando los estadísticos F de Wright (Fis, Fit y Fst) y Phi PT, parámetro análogo al Fst, descrito por Excoffier *et al.* (1992) (Peakall y Smouse, 2012). Estos estadísticos F y el Phi PT fueron calculados utilizando el software GenAlex versión 6.5 con el método de Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) (Peakall y Smouse, 2012).

El flujo genético se determinó en función del número de migrantes (Nm) con la fórmula $Nm = [(1/F_{ST}) - 1]/4$ por medio del programa GenAlex versión 6.5 (Peakall and Smouse, 2012; Piñero *et al.*, 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FRECUENCIAS ALÉLICAS, GENOTÍPICAS Y EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG (HWE)

El producto de PCR de 451 pb perteneciente al exón 6 del gen POU1F1 contenía o no un sitio de restricción para la enzima *HinfI*. Luego del corte con esta endonucleasa se obtuvo un fragmento para el genotipo AA, dos fragmentos para el genotipo BB y tres fragmentos para el genotipo heterocigótico AB (figura 1).

Para el polimorfismo del gen POU1F1 se encontró una frecuencia total de 0,213 para el alelo A y 0,787 para el alelo B. Las frecuencias genotípicas totales fueron 0,029, 0,368 y 0,603 para AA, AB, y BB, respectivamente. Las frecuencias alélicas y genotípicas, observadas y esperadas para cada una de las subpoblaciones

analizadas y para la población total se muestran en la tabla II.

Existen diferentes investigaciones en las cuales se ha estudiado la frecuencia alélica y genotípica para este polimorfismo en diferentes razas de ganado de diversas poblaciones (tabla III). En otro estudio realizado en vacas Holstein, también en Antioquia, se reportaron frecuencias alélicas cercanas a las reportadas en este trabajo. Para el alelo A estos investigadores encontraron una frecuencia de 0,24, y para el alelo B de 0,76. De igual manera, las frecuencias genotípicas presentaron valores cercanos. Para el genotipo AA reportaron una frecuencia de 0,03, 0,43 para el AB, y 0,54 para el BB (Corrales-Álvarez *et al.*, 2010), obedeciendo a una mayor presencia del alelo B. Para la población Holstein de Italia se reportó una frecuencia menor para el alelo A (0,188) y mayor para el alelo B (0,812) (Renaville *et al.*, 1997). Por el contrario, en la población Holstein de Chile, el alelo A tuvo una frecuencia mayor que la reportada en este estudio (0,283), mientras que el alelo B presentó una frecuencia menor (0,717) que la acá reportada (Cedeño y Vargas, 2004) evidenciando que en todas las poblaciones de la raza Holstein en diversas regiones del mundo, el alelo B predomina sobre el alelo A.

Bajo la comparación de las especies *Bos taurus* y *Bos indicus* se evidencia un comportamiento inverso en las frecuencias para los alelos B y A, siendo mayor la presencia del alelo A con respecto al alelo B para la subespecie *Bos indicus* y para el caso de la raza *Bos taurus* alelo B prima sobre el alelo A en las poblaciones evaluadas. Para el primer grupo genético, al que pertenece la raza Holstein, el alelo más común es el B, mientras que para el segundo es el A. Como puede verse en la tabla III, para las poblaciones Gyr y

Tabla III. Frecuencias alélicas, genotípicas y heterocigosidad esperada del polimorfismo del exón 6 gen POU1F1 en diferentes razas y subespecies bovinas (Allelic and genotypic frequencies, and expected heterozygosity of the polymorphism of exon 6 POU1F1 gene in different breeds and bovine subspecies).

Subespecie	Raza	Población	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas		He	Referencia
			AA	AB	BB	A	B		
<i>B. p. taurus</i>	Holstein	Antioquia	0,287	0,367	0,603	0,212	0,787	0,334	(Isaza et al 2015)
	Holstein	Antioquia	0,03	0,43	0,54	0,24	0,76	---	(Corrales-Álvarez <i>et al.</i> , 2010)
	Holstein	Italia	0,022	0,315	0,553	0,188	0,812	0,305	(Renaville <i>et al.</i> , 1997)
	Holstein	Chile	0,10	0,35	0,55	0,283	0,717	0,405	(Vargas <i>et al.</i> , 2004)
	Pardo Suizo	Turquía	0,12	0,51	0,37	0,374	0,626	0,468	(Aytekin y Boztepe, 2013)
	Angus	Ohio	0,111	0,440	0,450	0,331	0,669	0,443	(Zhao <i>et al.</i> , 2004)
	Piemontese	Italia	---	---	---	0,25	0,75	---	(Di Stasio <i>et al.</i> , 2002)
	Qinchuan	China	0,030	0,403	0,537	0,232	0,768	0,356	(Zhang <i>et al.</i> , 2009)
	Limousine	Polonia	0,069	0,407	0,523	0,27	0,73	---	(Dybus <i>et al.</i> , 2003)
	Poland Black and White	Polonia	0,052	0,382	0,566	0,243	0,757	0,368	(Dybus <i>et al.</i> , 2004)
<i>B. p. indicus</i>	Podolica	Italia	0,144	0,317	0,538	0,30	0,70	---	(Selvaggi y Dario, 2011)
	Gyr	Brasil	0,900	0,100	0,000	0,95	0,05	---	(De Mattos <i>et al.</i> , 2004)
	Nellore	Sao Paulo	0,795	0,205	0,000	0,897	0,103	0,185	(Curi <i>et al.</i> , 2006)

He: Heterocigosidad esperada.

Tabla IV. Estadísticos F_{ST} pareados entre algunas subpoblaciones de vacas Holstein del Departamento de Antioquia (Statistical F_{ST} paired between some subpopulations of Holstein cows of the Department of Antioquia).

	Bello	Belmira	Entrerrios	La Unión	Medellín	Rionegro	San Pedro de los Milagros
Bello		0,168	0,320	0,311	0,158	0,124	0,122
Belmira	0,007		0,179	0,308	0,329	0,308	0,314
Entrerrios	0,000	0,007		0,325	0,119	0,090	0,097
La Unión	0,000	0,000	0,000		0,326	0,318	0,321
Medellín	0,008	0,000	0,008	0,000		0,282	0,335
Rionegro	0,016	0,000	0,017	0,000	0,000		0,333
San Pedro de los Milagros	0,007	0,000	0,007	0,000	0,000	0,000	

Valor p por encima de la diagonal. Valores de F_{ST} bajo la diagonal.

Nellore en Brasil, el alelo B tiene una frecuencia muy baja, de 0,05 y 0,103, respectivamente, y en ambas poblaciones, la frecuencia del genotipo BB es 0,00 (De Mattos *et al.*, 2004; Curi *et al.*, 2006) Esto podría indicar que estos grupos genéticos se han visto afectados por procesos de selección diferentes u opuestos, y que este polimorfismo podría estar asociado con aquellas características productivas específicas y de importancia económica en cada uno de estos grupos genéticos (Zhang *et al.*, 2009; Curi *et al.*, 2006; Aytekin y Boztepe, 2013) which were at Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$).

Para la población total se encontraron diferencias significativas entre la heterocigosidad observada, $H_o = 0,368$, y la esperada, $H_e = 0,334$ ($p < 0,05$), por lo cual no se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) (tabla II). Casi todas las subpoblaciones se encontraron en HWE, excepto la del municipio de Entrerrios. Para esta población en particular y para la población total se encontró un aumento significativo en el número de heterocigotos esperados mostrando una tendencia a la exogamia. En Italia, se ha estudiado la estructura genética de la raza de ganado Podolica a partir de dos polimorfismos del gen POU1F1. Con base en el locus POU1F1/*HinfI* se encontró que el valor de χ^2 calculado fue 6,43 ($p < 0,05$) indicando que esta

población se encuentra en desequilibrio de Hardy-Weinberg, pero a diferencia de lo encontrado en esta investigación, la población de raza Podolica presentó un exceso de individuos BB y AA y como consecuencia una deficiencia de heterocigotos (Selvaggi y Dario, 2011) debido posiblemente al apareamiento no aleatorio entre los individuos. En China se ha evaluado la frecuencia para cada uno de los alelos del polimorfismo de POU1F1 en cuatro poblaciones de ganado, Qinchuan, Limousin, Angus y Gelbvieh (Zhang *et al.*, 2009) which were at Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$). Se encontró que estos alelos presentaron un equilibrio dinámico, es decir, que esas cuatro poblaciones se encontraban en HWE. La misma situación fue encontrada en otras poblaciones como el ganado Pardo Suizo de Turquía, el Poland Black and White de Polonia también se encuentran en HWE basados en este polimorfismo del gen POU1F1 (Aytekin y Boztepe, 2013; Dybus *et al.*, 2004). Lo que puede deberse a que la selección por características fenotípicas en estas poblaciones evaluadas no ha afectado la estructura alélica para el locus POU1F1.

ESTRUCTURA GÉNICA

El estadístico F_{ST} para la población total fue de 0,02 ($p = 0,325$) indicando nula diferenciación genética entre

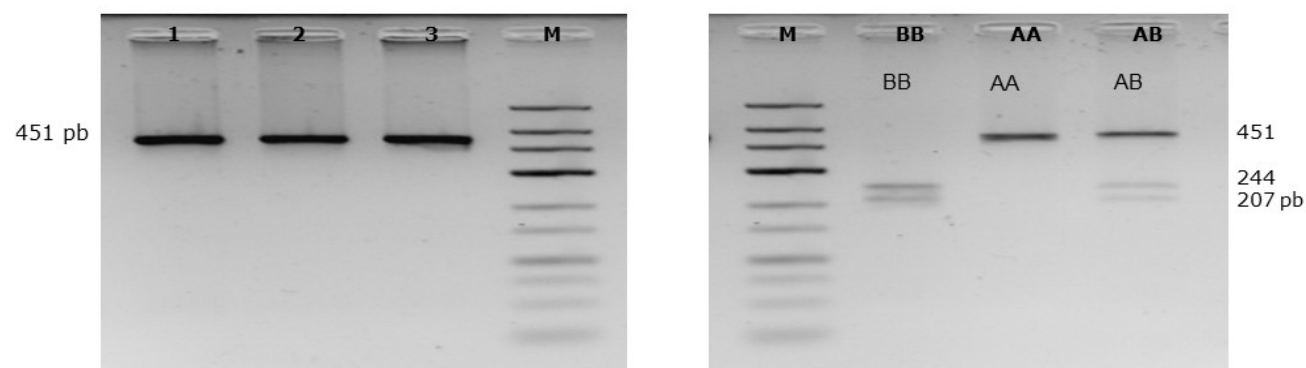


Figura 1. Fragmento amplificado (451 pb) del gen POU1F1 (líneas 1, 2, 3) y patrón de restricción luego de la digestión con la enzima *HinfI* para los genotipos BB, AA y AB (líneas 6, 7, 8 respectivamente). Las líneas 4 y 5 corresponden al marcador de peso molecular (Amplified fragment (451 pb) of the POU1F1 gene (lines 1, 2, 3) and restriction pattern after digestion with the *HinfI* enzyme for the BB, AA and AB genotypes (lines 6, 7, 8 respectively). Lines 4 and 5 correspond to the molecular weight marker).

las subpoblaciones, de esta manera las subpoblaciones pueden considerarse como parte de una sola gran población en la cual se presenta el apareamiento aleatorio. Esto puede deberse a que en la mayoría de los sistemas de producción, aun siendo de diferentes municipios, se utiliza material genético de los mismos toros (semen importado). Además de esto, la poca diferenciación entre los municipios puede ser consecuencia del movimiento de animales entre los diferentes sistemas de producción del departamento de Antioquia.

Los estadísticos F de Wright permiten dividir el coeficiente de endogamia de una población subdividida (F_{IT}) entre el componente debido al apareamiento no aleatorio dentro de las subpoblaciones (F_{IS}) y la subdivisión entre poblaciones (F_{ST}) (Piñero *et al.*, 2008). El valor obtenido de F_{IS} para la población total fue $-0,103$ ($p = 0,992$) lo que podría demostrar que el apareamiento selectivo dentro de los hatos de la población evaluada no han tenido efecto sobre la distribución de los genotipos en los hatos de la población. El valor de F_{IT} obtenido $-0,100$ ($p = 0,989$). Indicando que no se presentan procesos de fijación ni de endogamia en la población total, pudiendo deberse al alto flujo genético en los hatos que conforman la población.

Para esta población se encontró un número de migrantes (N_m) de 134,51 individuos por generación. Este valor representa el valor medio de flujo de genes, es decir, el movimiento de individuos o gametos entre las subpoblaciones, promoviendo de esta manera el intercambio genético entre los hatos evaluados. Este número de migrantes apoya el F_{ST} 0,002 ($P = 0,325$) para esta población, debido a que el alto el flujo genético entre las subpoblaciones evaluadas contrarresta la deriva genética, evitando la diferenciación genética entre los hatos. Indicando que el conjunto de subpoblaciones funcionan como una sola población (genética) desde el punto de vista de este polimorfismo.

DIFERENCIACIÓN GENÉTICA

Los F_{ST} pareados presentaron valores bajos, entre 0,000 y 0,017 (tabla IV), indicando que entre las subpoblaciones existe muy poca diferenciación genética. Sin embargo, ninguno de estos valores presentó diferencias significativas ($p > 0,05$). Como una medida adicional se evaluó el Phi PT entre estas poblaciones tomando en cuenta que estos sistemas de producción transgreden los supuestos para la evaluación de los F_{ST} especialmente el supuesto de selección, debido a que en estos hatos se da la selección de los mejores individuos y reproductores para optimizar ciertas características como por ejemplo el volumen de leche. Los resultados arrojados para Phi PT entre las subpoblaciones no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$) corroborando el comportamiento de este grupo de subpoblaciones como una sola población desde el punto de vista genético a partir del polimorfismo de este gen. Aunque estos municipios se encuentran distantes geográficamente separados y ubicados por regiones según la ubicación espacial de estos en el departamento, el F_{ST} y el Phi PT demuestran que se comportan como una sola población desde el punto de vista genético para este caso, lo que podría deberse a que el material genético (semen) utilizado en la inseminación artificial

puede provenir de un grupo reducido de toros debido a la forma en que es comercializado el semen en el departamento de Antioquia pudiéndose encontrar coincidencias entre los municipios de la región Norte y Oriente del departamento (tablas IV y V).

En contraste, la estructura genética del ganado Holstein de Antioquia, se ha evaluado a su vez para otros polimorfismos; como el polimorfismo del intrón 6 del gen de Lactoferrina (LTF) y el polimorfismo del intrón 3 del gen de la Hormona de Crecimiento (GH) (Rodríguez *et al.*, 2011; Rincon *et al.*, 2013). Para ambos polimorfismos, la población evaluada conformada por diferentes municipios del departamento, se encontró en HWE. Sin embargo, el municipio de San Pedro de los milagros, municipio de tradición lechera en la zona y el país, siendo un referente en muchos aspectos incluyendo los intensos niveles de selección dentro de los planes de mejoramiento animal de los hatos lecheros dentro del municipio, presentó desviaciones del HWE para el SNP de LTF, lo cual puede deberse a dichos niveles de selección.

El N_m representa el número absoluto de organismos que migran entre las subpoblaciones en cada generación. La migración se constituye como una fuerza importante en contra de la divergencia genética entre las subpoblaciones, por lo cual contribuye a disminuir el índice de fijación u homocigosidad (Hartl y Clark, 2007). Tanto en este estudio, como en los análisis reportados por Rincón y colaboradores (2013) para el polimorfismo del intrón 3 de GH y por Rodríguez y colaboradores (2013) para el polimorfismo del exón 6 de LTF, donde el N_m fue de 36 y 25 respectivamente, se encontró la misma tendencia para el N_m (alto número de migrantes) para la población Holstein de Antioquia para los polimorfismos evaluados. Según la literatura, si el $N_m > 1$ las subpoblaciones evolucionan como una sola población; sin embargo, es más acertado afirmar que no existe subdivisión poblacional si el $N_m > 10$ (Nielsen y Slatkin, 2013). Es debido a este alto N_m que no se encontró diferenciación genética entre las subpoblaciones, con base en el polimorfismo del gen POU1F1.

CONCLUSIONES

La población estudiada presentó diferencias entre H_E y H_O , por lo cual no se encontró en HWE, lo cual se ve sustentado por el alto número de migrantes encontrado. La baja frecuencia encontrada para el alelo A en la población obedece a la tendencia de la especie *Bos s Taurus*, a su vez se podría postular nuevos estudios que relacionen las interacciones genéticas con otros genes (PRL y GH) ya dicha relación podría tener relevancia en las frecuencias encontradas para la población Holstein del departamento.

Pese a que las subpoblaciones evaluadas en este estudio están geográficamente dispersas, el flujo genético ha contrarrestado la deriva genética, permitiendo que estas sean una sola población para desde el punto de vista del polimorfismo del exón 6 del gen POU1F1.

Así este tipo de análisis se convierten en importantes herramientas para el sector y los productores,

debido a que aportan información importante para las estrategias de mejoramiento y de cruzamiento de cada sistema productivo, debido a la relación entre los hatos que conforman la población evaluada.

BIBLIOGRAFÍA

- Aytekin, I. and Boztepe, S. 2013. Associations of pit-1 gene polymorphism with milk yield and composition traits in brown swiss cattle. *J Anim Plant Sci*, 23: 1281-1289.
- Cedeño, D. y Vargas B. 2004. Optimización de políticas de descarte en ganado bovino lechero de Costa Rica. *Arch Zootec*, 53: 249-260.
- Corrales, J.; Cerón, M.; Cañas, J.; Acevedo, C.; Sepúlveda, J.; Calvo, S. y Moreno M. 2010. Estudio del polimorfismo HinfI del gen pit-1 y su asociación con características de tipo, producción de leche y días abiertos de vacas Holstein en el departamento de Antioquia, Colombia. *Actual Biológicas*, 32: 139-145.
- Curi, R.A.; Palmieri, D.A.; Sugisawa, L.; Oliveira, H.N.; Silveira, A.C. and Lopes, C.R. 2006. Growth and carcass traits associated with GH1 / Alu I and POU1F1/Hinf I gene polymorphisms in Zebu and crossbred beef cattle. *Genet Mol Biol*, 29: 56-61.
- De Mattos, K.; Del Lama S.; Martinez, M. and Freitas A. 2004. Association of bGH and Pit-1 gene variants with milk production traits in dairy Gyr bulls. *Pesqui Agropecu Bras*, 39: 147-150.
- Deb, R.; Chakraborty, S. and Singh, U. 2012. Molecular markers and their application in livestock genomic research. *J Vet Sci Technol*, 03: 7579.
- Di Stasio, L.; Sartore, S. and Albera, A. 2002. Lack of association of GH1 and POU1F1 gene variants with meat production traits in Piemontese cattle. *Anim Genet*, 33: 61-64.
- Dybus, A.; Kmiec, M.; Sobek, Z.; Pietrzyk, W. and Wisniewski, B. 2003. Associations between polymorphisms of growth hormone releasing hormone (GHRH) and pituitary transcription factor 1 (PIT1) genes and production traits of Limousine cattle. *Arch Anim Breed*, 46: 527-534.
- Dybus, A.; Szatkowska, I.; Czerniawska-Piatkowska, E.; Grzesiak, W.; Wójcik J.; Rzewucka, E. and Zych, L. 2006. GHRH/HaeIII gene polymorphism and its associations with milk production traits in Polish Black-and-White cattle. *Arch Anim Breed*, 49: 434-438.
- Eguarte, L.; Aguirre, E.; Scheinva, E.; González, A. y Souza V. 2010. Flujo génico, diferenciación y estructura genética de las poblaciones, con ejemplos en especies de plantas mexicanas. Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental. México. pp. 1-30.
- Excoffier, L.; Smouse, P. E. and Quattro, J.M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.
- Hartl D. and Clark A. 2007. Principles of population genetics. 4th ed. Sinauer Associates IP, editor. Sinauer Associates, Inc. Publishers. USA. 652 pp.
- Huang, W.; Maltecca, C. and Khatib, H. 2008. A proline-to-histidine mutation in POU1F1 is associated with production traits in dairy cattle. *Anim Genet*, 39: 554-557.
- Lirón, J.; Ripoli, M.; De Luca, J.; Peral-García, P. and 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.
- Madrid, S.; Lopez, A. and Echeverri, J. 2015. INHA A192G polymorphism and its association with dairy traits in Antioquia Holstein cattle. *Arch Zootec*, 64: 147-154.
- Miller, S.; Dykes, D. and Polesky, H. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 16: 1215.
- Muasya, T.; Peters, K. and Kahi, A. 2013. Breeding structure and genetic variability of the Holstein Friesian dairy cattle population in Kenya. *Anim Genet Resour*, 52: 127-132.
- NCBI. 2015. POU1F1. POU class 1 homeobox 1 - Gene. *Bos taurus*.
- Nielsen, R. and Slatkin, M. 2013. An introduction to population genetics. Theory and applications. 1st ed. Sinauer A. (Ed.). Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA. 287 pp.
- Peakall, R. and Smouse, P. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Bioinformatics*, 28: 2537-2539.
- Piñero, D.; Barahona, A.; Eguarte, L.; Rocha, A. y Salas, R. 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. Capital natural de México. pp. 415-435.
- Renaville, R.; Gengler, N.; Vrech, E.; Prandi, A.; Massart, S.; Corradini, C.; Bertozzi, C.; Mortiaux, F.; Burny, A. and Portetelle, D. 1997. Pit-1 gene polymorphism, milk yield, and conformation traits for Italian Holstein-Friesian bulls. *J Dairy Sci*, 80: 3431-3438.
- Rincon, J.; Lopez, A. y Echeverri, J. 2013. Estructura y diversidad genética en vacas Holstein de Antioquia usando un polimorfismo del gen bGH. *Rev MVZ Cordoba*, 18: 3346-3354.
- Rodríguez, N.; López, A. y Echeverri, J. 2011. Diversidad genética de un polimorfismo del gen de Lactoferrina Bovino (LTF) en una población de vacas Holstein de Colombia y su asociación con componentes de la leche (resultados preliminares). *Actas Iberoam Conserv Anim*, 1: 151-153.
- Selvaggi, M. and Dario, C. 2011. Analysis of two Pit-1 gene polymorphisms : Single nucleotide polymorphisms (SNPs) distribution patterns in Podolica cattle breed. *Afr J Biotechnol*, 10: 11360-11364.
- UniProtKB. 2015. POU1F1. Pituitary specific positive transcription factor 1 - *Bos taurus*.
- Vargas, L.; Gana, D. y Escudero, F. 2004. Polimorfismo del gen PIT-1 en vacas lecheras de Chile central. *Arch Zootec*, 53: 217-220.
- Vignal, A.; Milan, D.; Sancristobal, M. and Eggen, A. 2002. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet Sel Evol*, 34: 275-305.
- Zhang, C.; Liu, B.; Chen, H.; Lan, X.; Lei, C.; Zhang, Z. and Zhang, R. 2009. Associations of a HinfI PCR-RFLP of POU1F1 gene with growth traits in Qinchuan cattle. *Anim Biotechnol*, 20: 71-74.
- Zhao, Q.; Davis, M.E. and Hines, H.C. 2004. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. *J Anim Sci*, 82: 2229-2233.