



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



**“ANÁLISIS GENÉTICO DE POBLACIONES DE GUAJOLOTE
DOMÉSTICO DE TRASPATIO A TRAVÉS DE MARCADORES
MOLECULARES DE ADN MITOCONDRIAL“**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA

BIOL. MARÍA ELENA CORNEJO PÉREZ

ASESORA DE TESIS:

DRA. MARÍA GUADALUPE ZAVALA PÁRAMO

CO-ASESOR:

DR. HORACIO CANO CAMACHO

MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO AGOSTO 2011



ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS

I.	RESUMEN	
II.	INTRODUCCIÓN.....	1
	Marcadores moleculares	4
	Marcadores de ADN mitocondrial (ADNmt).....	4
	Taxonomía de <i>Meleagris gallopavo</i> L.....	6
	Proceso de domesticación en México.....	6
	Caracterización fenotípica, productiva y socioeconómica en Michoacán.....	7
	Estudios moleculares en <i>Meleagris gallopavo</i> L.....	9
III.	JUSTIFICACIÓN.....	12
IV.	HIPÓTESIS.....	13
V.	OBJETIVOS.....	14
VI.	MATERIALES Y MÉTODOS	
	Material biológico.....	15
	Extracción de ADN de muestras de sangre.....	15
	Amplificación de ADN por Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	16
	Secuenciación.....	17
	Alineación y edición de secuencias.....	17
	Análisis de secuencias.....	17
VII.	RESULTADOS	
	Amplificación de la Región Control del ADNmt.....	19
	Alineamiento y edición de secuencias.....	19

Diversidad genética.....	20
Análisis filogenético de <i>Meleagris gallopavo</i> L.....	21
Análisis de la relación entre los haplotipos del estado de Michoacán.....	25
Análisis de la relación entre los haplotipos del estado de Michoacán y otros haplotipos de guajolote doméstico.....	25
Análisis de relación entre los haplotipos de guajolote doméstico y silvestre	26

VIII. DISCUSIONES

Diversidad genética del guajolote mexicano.....	31
Filogenia del guajolote.....	32
Relación entre los haplotipos del estado de Michoacán y otros haplotipos de guajolote doméstico.....	34
Relación entre los haplotipos de guajolote doméstico y silvestre.....	35
Situación histórica y actual de las poblaciones de guajolote doméstico de traspatio en Michoacán.....	36

IX. CONCLUSIONES.....38

X. LITERATURA CITADA.....39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Distribución histórica de las seis subespecies de <i>Meleagris gallopavo</i> L. (Tomado de Speller <i>et al.</i> , 2009).....	7
Figura 2.	Análisis mediante el uso de 7 loci microsátélites en el guajolote doméstico y silvestre. En a) Árbol de distancia con el método Neighbor-Joining usando las distancias genéticas de Nei. En b) Estructura genética, cada barra representa un individuo y cada color un grupo genético, Balsas y Bajío (amarillo), Faja Volcánica Transmexicana (azul), Sierra y Costa (rojo) y silvestre (verde).....	10
Figura 3.	Red de haplotipos usando Median-Joining. Las muestras arqueológicas del Suroeste de EUA formando dos grupos (H1 y H2) y un tercer grupo (H3) obtenido de cinco muestras de <i>Meleagris g. gallopavo</i> silvestre y de 12 muestras obtenidas de productores de guajolote doméstico de la Isla de Vancouver, de Baja California y Canadá así como de supermercados de Estados Unidos y Canadá.	11
Figura 4.	Amplificación de un fragmento de la Región Control del ADN mitocondrial. Gel de agarosa al 1%, en TAE 1X. Carril 1-9) fragmento esperado de 650 pb de ADNmt de <i>Meleagris g. gallopavo</i> . Carril 10) marcador de tamaño molecular 1kb plus de 1200-100 pb.....	19
Figura 5.	Árbol generado por un análisis bayesiano con 1×10^6 generaciones usando dos cadenas MCMC. Relación de los 65 haplotipos de las seis subespecies de <i>Meleagris gallopavo</i> . Las ramas terminales de color rosa corresponden a los haplotipos encontrados en el estado de Michoacán. Las ramas terminales grises agrupan los haplotipos del Suroeste de EUA (Speller <i>et al.</i> , 2009). AD es MICH1 y FFA23 es MICH2.....	23
Figura 6.	Árbol de distancia por el método Neighbor Joining con el modelo de sustitución de Tamura –Nei (1993). Relación de los 65 haplotipos de las seis subespecies de <i>Meleagris gallopavo</i> . Las ramas terminales de color rosa corresponden a los haplotipos encontrados en el estado de Michoacán. Las ramas terminales grises agrupan a los haplotipos del Suroeste de EUA (Speller <i>et al.</i> , 2009). AD es MICH1 y FFA23 es MICH2.....	24
Figura 7.	Red de haplotipos de los guajolotes de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán usando Median-Joining. Relaciones de los 16 haplotipos encontrados en 148 individuos de guajolote doméstico de traspatio del estado de Michoacán. Cada círculo representa un haplotipo y el número indica los individuos encontrados en cada uno. MICH1 corresponde al haplotipo AD y mHap2 y MICH2 corresponde al FAA23 y mHap1 (Mock <i>et al.</i> , 2002; Speller <i>et al.</i> , 2009).....	28

Figura 8.	Red de haplotipos de los guajolotes domésticos usando Median-Joining. Relaciones de los 19 haplotipos de guajolote doméstico de traspatio encontrados en Michoacán, Puebla y Guatemala con los 12 encontrados por Speller <i>et al.</i> , 2009 en muestras arqueológicas, y cuatro haplotipos de guajolote comercial Bronce. Cada círculo representa un haplotipo y el número indica los individuos encontrados en cada uno. MICH1 corresponde al haplotipo AD y mHap2 y MICH2 corresponde al FAA23 y mHap1 (Mock <i>et al.</i> , 2002; Speller <i>et al.</i> , 2009).....	29
Figura 9.	Red de haplotipos de las seis subespecies propuestas para <i>Meleagris gallopavo</i> L. usando Median-Joining. Relación de los 42 haplotipos reportados por Mock <i>et al.</i> , (2002), los 12 obtenidos por Speller <i>et al.</i> , (2009), los siete haplotipos encontrados en este estudio en <i>Meleagris g. mexicana</i> , un haplotipo de <i>Meleagris g. intermedia</i> y 19 en <i>Meleagris g. gallopavo</i> . Cada círculo representa un haplotipo y el número indica los individuos encontrados en cada uno. MICH1 corresponde al haplotipo AD y mHap2 y MICH2 corresponde al FAA23 y mHap1 (Mock <i>et al.</i> , 2002; Speller <i>et al.</i> , 2009).....	30

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Características morfométricas de las hembras adultas (10 a 18) meses de guajolote de traspatio de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán, México.....	9
Cuadro 2.	Características morfométricas de los machos adultos (10 a 18 meses) de guajolote de traspatio de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán, México.....	9
Cuadro 3.	Oligonucleótidos utilizados para la amplificación.....	16
Cuadro 4	Secuencias correspondientes a los 25 Haplotipos de la Región control obtenidos en este estudio.....	20
Cuadro 5.	Datos obtenidos de la diversidad de haplotipos de los individuos analizados de Guajolote doméstico y silvestre.....	21

I. RESUMEN

Meleagris gallopavo L. (Guajolote norteño) es una especie de origen neártico, su distribución se extiende desde México hasta el sureste de Canadá, donde se encuentran representantes de las seis subespecies propuestas. Las poblaciones silvestres de guajolotes que se encuentran en México, corresponden a las subespecies *M. g. intermedia* y *M. g. mexicana*, y las domésticas a la subespecie *M. g. gallopavo*. El guajolote doméstico es un recurso zoogenético, ligado a diversos aspectos de la cultura nacional, que es necesario caracterizar para el establecimiento de estrategias de conservación y manejo, así como para el reconocimiento de sus variedades. Ya que actualmente se cuenta con poca información genético molecular de este recurso, en este estudio fueron analizados los niveles de diversidad y las relaciones genéticas de guajolotes domesticados de traspatio de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán (n=148) y Puebla (n=2) y de Guatemala (n=4), guajolotes de la línea comercial Bronce (n=9) y guajolotes silvestres del centro y noreste de México (Durango y Tamaulipas) (n=13), a través de marcadores de ADN mitocondrial. Se analizaron 438 pb de la Región Control de muestras de sangre y tejido de 163 aves domesticadas y 13 de guajolote silvestre. También se utilizó la información de guajolotes silvestres reportados en la base de datos internacionales de The National Center for Biotechnology Information (NCBI). De los 176 individuos analizados (domésticos y silvestres) se encontraron un total de 31 haplotipos, 16 de los cuales fueron para Michoacán con una $Hd= 0.576$ y $\pi=0.00150$, dos para Puebla, uno para Guatemala, cuatro para la línea comercial Bronce, siete para guajolotes silvestres de Durango y uno para los de Tamaulipas. Los haplotipos MICH1 y MICH2 de guajolotes domesticados fueron predominantes para las poblaciones de Michoacán y se comparten con los individuos domesticados de Puebla y Guatemala, y con los silvestres de Tamaulipas y solo con un individuo de Durango. Los guajolotes de Puebla también presentaron un haplotipo (P28) que no se encontró en los guajolotes domésticos analizados, pero se compartió con los guajolotes silvestres y mostró relación con los haplotipos de guajolotes domésticos extintos de EUA. Los guajolotes domésticos de traspatio de Michoacán no se estructuraron en relación a su distribución geográfica, pero sus haplotipos conformaron un solo grupo representando a *M. g. gallopavo*.

Las poblaciones de *M. g. mexicana* presentan los haplotipos más antiguos y su historia demográfica indica que sufrió un cuello de botella y una fragmentación en poblaciones pequeñas. Los guajolotes de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán (Bajío, Faja Volcánica Transmexicana, Balsas, Sierra y Costa) provienen de una única población ancestral. La población Costa de Michoacán además de sufrir una selección natural por la presión ambiental como se observa con datos morfológicos y moleculares, la presencia de solo dos alelos privados encontrados con microsatélites, nos describe que los guajolotes de esta región se separaron en tiempo más reciente que las otras poblaciones, por lo que también pudo ocurrir una selección artificial particular por el tipo de cultura asentada en ese lugar.

II. INTRODUCCIÓN

El género *Meleagris* comprende las dos especies de guajolote conocidas y ambas se encuentran en México, una es el guajolote norteño (*M. gallopavo*), del cual se deriva el guajolote doméstico y la otra es el guajolote de monte (*M. ocellata*), que se presenta solamente en el sureste de México y zonas colindantes de Guatemala y Honduras (Leopold, 1990). De acuerdo a diferentes características morfológicas como tamaño, coloración de las patas, del pico o plumaje, y recientemente con base en tipificación molecular, se han propuesto seis subespecies de *M. gallopavo*: *M. g. intermedia*, *M. g. merriami*, *M. g. osceola*, *M. g. silvestris*, *M. g. mexicana* y *M. g. gallopavo*. De acuerdo a lo anterior, las poblaciones silvestres de guajolotes que se encuentran en México, corresponden a las subespecies *M. g. intermedia* y *M. g. mexicana*, y las domésticas a la subespecie *M. g. gallopavo* (Stangel *et al.*, 1992; Mock *et al.*, 2002).

El guajolote norteño es una especie de origen neártico, su distribución se extiende hasta el sureste de Canadá, este y sureste de Estados Unidos donde se encuentran representantes de las seis subespecies propuestas. Las variedades domésticas o líneas comerciales de *M. g. gallopavo* se han establecido por todo el mundo. Las poblaciones de guajolote silvestre mexicano *M. g. intermedia* y *M. g. mexicana*, se encuentran desde el norte del país hasta el centro (Mock *et al.*, 2002). Originalmente se encontraban en bosques de pino-encino de las mesetas del occidente de Sonora y Chihuahua, en Michoacán, en el este del estado de México y los planos costeros de Coahuila, Tamaulipas y Veracruz (Leopold, 1990). Actualmente la distribución del guajolote silvestre se ha reducido hasta casi el 50% (Scott y Müller-Using, 1992). Las principales causas de su desaparición progresiva en algunas áreas son la presión sobre su hábitat y la caza desmedida (Leopold, 1990). Existen algunos reportes de lugares donde el guajolote silvestre se ha extinguido, en Manantiales San Luis (Chihuahua, reporte de 1907), Rancho Batel (Sinaloa, en 1938), Los Reyes y Pico de Tancítaro (Michoacán), Camargo, Soto la Marina (Tamaulipas), Cerro de la Silla (Nuevo León) y Sabinas (Coahuila) (Leopold, 1990).

El análisis molecular del genoma del guajolote se inició a mediados de la década pasada y ha tomado un gran impulso desde el comienzo de este siglo. Se han realizado varios estudios a

través del uso de algunos marcadores moleculares desarrollados para la construcción del mapa genético del pollo, o diseñados en guajolote doméstico y en guajolote silvestre (Levin *et al.*, 1994; Liu *et al.*, 1996, Reed *et al.*, 1999; Latch *et al.*, 2002; Reed *et al.*, 2003; Burt *et al.*, 2003). Entre los primeros estudios desarrollados para el análisis de las poblaciones de guajolote silvestre se encuentran algunos realizados en las localidades de EUA, donde se revisaron aspectos tales como evaluación de polimorfismo dentro y entre las poblaciones (Smith *et al.*, 1996), subespeciación (Szalanski *et al.*, 2000), impacto por la reintroducción (Mock *et al.*, 2001), diversidad genética dentro y entre las poblaciones, flujo genético entre subespecies y validez de la subespeciación (Mock *et al.*, 2002), y la evaluación de la pérdida de diversidad genética debida a translocación (Mock *et al.*, 2004). Los estudios realizados en *M. g. mexicana* (n=41), incluyeron poblaciones tomadas de las localidades de Yécora, Sonora, y del norte y centro de la Sierra Madre de Chihuahua, consideradas como las poblaciones relictas, se utilizaron como referencia para evaluar la diversidad genética de las poblaciones de *M. g. mexicana* reintroducidas en USA, flujo genético entre *M. g. mexicana* y *M. g. merriami*, para el análisis y comparación de diversidad genética a través de la especie, validez de la designación de subespecie y patrones de flujo genético a través de la distancia geográfica (Mock *et al.*, 2001, 2002). Aunque gracias a estos análisis se conocen algunos datos de poblaciones de Sonora y Chihuahua, hasta ahora eran la única referencia sobre niveles de diversidad genética de los guajolotes silvestres de México.

Los guajolotes fueron domesticados originalmente por diferentes grupos prehispánicos como los Aztecas, Purépechas, Huicholes y otras etnias mexicanas, entre los años 200 y 700 AC, antes de que América fuera descubierta por los europeos, sin embargo, en realidad se desconoce si existieron uno o varios centros de domesticación (Crawford, 1992). La presencia del guajolote en México se documentó en los reportes de las expediciones hechas por los conquistadores desde 1517, en lo que hoy constituye Yucatán, Campeche, Veracruz y Valle de México (Schorger, 1966). Los guajolotes domésticos llegaron a España a principios del siglo XVI, y de ahí pasaron sucesivamente a Inglaterra y a otros países europeos, en los que se realizaron diversos trabajos de selección. De acuerdo a algunos autores, los guajolotes o pavos domésticos existentes en EUA se derivan de ejemplares importados de Europa, donde constituyeron el inicio de la avicultura doméstica (Becerril, 2001).

Sin embargo, a pesar de su importancia cultural y económica en México, se conoce poco sobre las características genéticas de las poblaciones de guajolote doméstico de traspatio *M. g. gallopavo*. La permanencia de estas aves en las rancherías o áreas suburbanas del país parece deberse principalmente a su rusticidad y resistencia, lo cual les ha permitido adaptarse a condiciones de manejo rústico y bajo prácticamente todas las condiciones ecológicas (climas extremos, condiciones sanitarias inadecuadas y alimentación con bajo valor nutrimental) (Mallia 1998; Losada *et al.*, 2006; López-Zavala *et al.*, 2008a, 2008b).

Michoacán cuenta con una amplia diversidad de climas y características topográficas en base a las cuales se identifican cinco regiones fisiográficas cada una con una asociación vegetal característica, Bajío, Faja Volcánica Transmexicana, Balsas, Sierra y Costa (Madrigal, 1997). Esta diversidad de regiones parece tener un impacto en las características morfométricas de las poblaciones domésticas del guajolote de traspatio, ya que se observó que las poblaciones adultas de las regiones fisiográficas Bajío, Faja Volcánica Transmexicana y Balsas presentaron mayor envergadura y peso que las de las regiones Sierra y Costa, mostrando un patrón similar al conocido bajo la regla ecológica de Bergman citada por Futuyma (2005), que indica que los mamíferos y las aves tienden a variar su tamaño en diferentes latitudes, y que la variación en el tamaño de las aves está relacionada con los efectos combinados de la humedad, la temperatura y la altitud (James 1970; López-Zavala *et al.*, 2008a). Hasta ahora, las variedades Michoacanas y en general de México no son reconocidas por no contar con un historial sobre su origen, sin embargo la presencia de colores de plumaje raros (café, gris) además de los básicos, sugiere variedades en las poblaciones de traspatio que se han mantenido por la escasa selección que se aplica a su crianza, por lo cual, la genotipificación es una herramienta útil para su identificación (López-Zavala *et al.*, 2008a).

Se han realizado algunos estudios genético moleculares sobre el guajolote mexicano que incluyen un análisis de diversidad genética de algunas poblaciones de traspatio de los Estados de Puebla y Michoacán mediante RAPD's, y posteriormente la caracterización genético molecular de poblaciones de traspatio de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán, mediante el uso de 7 loci microsatélites, además de la caracterización productiva fenotípica y socioeconómica (Chassin-Noria *et al.*, 2005; López-Zavala *et al.*, 2007, 2008a, 2008b). El estudio de poblaciones domésticas de traspatio de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán, permitió establecer la presencia de una alta diversidad genética dentro de las

poblaciones, excepto en la región Costa, pero también se encontró una diferenciación en tres grupos genéticos asociados a una distribución geográfica que indican deriva genética, y un origen en poblaciones históricamente grandes, excepto de nuevo en el caso de las poblaciones de la región Costa, Michoacán.

Marcadores moleculares.

Se puede definir como un “marcador biológico” cualquier característica heredable que permita estudiar la diversidad biológica, entre ellos están los caracteres morfológicos, anatómicos, embriológicos, palinológicos, cromosómicos, bioquímicos y moleculares (Judd *et al.*, 1999). Los marcadores moleculares son biomoléculas que se pueden o no relacionar con un rasgo genético particular y se emplean de acuerdo a lo que se quiere analizar (Avice, 1994). Las biomoléculas que pueden utilizarse como marcadores moleculares son las proteínas (antígenos e isoenzimas) y el ADN (genes o fragmentos de ADN) (Simpson, 1997).

Entre los marcadores moleculares de ADN se cuenta con los de tipo haploide (de origen uniparental, cloroplasto y mitocondria), los cuales son dominantes al presentarse en el genoma como copias únicas, sin embargo, estos pueden tener diferente nivel de polimorfismo en su secuencia, por lo que las variantes de un marcador haploide se conocen como haplotipos. Los marcadores de ADN co-dominantes son aquellos que se presentan en el genoma como dos copias (de origen biparental por herencia mendeliana, nucleares) y permiten identificar todos los alelos que están presentes en un locus particular (Freeland, 2005). Las aplicaciones de los marcadores moleculares son muy diversas, se han empleado para reconocer la diferenciación de individuos, análisis filogenéticos y sistemáticos, mapeos del genoma, cuantificación de la variabilidad génica intra e interespecífica, mejoras genéticas, localización de genes de resistencia a enfermedades, análisis de paternidad de los individuos de diferentes poblaciones (Zavala *et al.*, 2002).

Marcadores de ADN mitocondrial (ADNmt).

El ADNmt de vertebrados es una molécula circular que tiene un tamaño de 16 a 20 kb con una disposición más o menos conservada. El genoma mitocondrial consiste de 37 genes de los cuales 13 codifican a ARNs mensajeros, 22 ARNs de transferencia, 2 ARNs ribosomales (12S y 16S) y una región no codificante que se encarga de la replicación y la transcripción del ADN mitocondrial conocida como Región Control o D-loop. El ADNmt presenta características únicas como marcador molecular, permitiendo diversas aplicaciones en el entendimiento de

patrones de variación genética debido a su alto nivel de variabilidad, ya que posee una herencia materna, no hay recombinación génica, tiene una alta tasa de mutación 10^{-8} /sitio/año, comparado con los genes nucleares que es de 10^{-9} /sitio/año, presenta mutaciones puntuales con una fuerte tendencia a transiciones sobre transversiones, carece de ADN repetitivo (pseudogenes, transposones e intrones) y el tipo de cambio genético es en su mayoría por sustitución y algunas eliminaciones o adiciones que ocurren en pocos nucleótidos (Brown *et al.* 1979; Brown *et al.* 1982; Fernández-Silva *et al.*, 2003; Avise, 2004; Scotto, 2006; Nabholz *et al.*, 2008).

Los haplotipos del ADNmt registran la historia matrilineal de los eventos mutacionales y pueden conectarse filogenéticamente en un filograma, el cual puede a su vez sobreponerse a la distribución geográfica del grupo de estudio, a fin de interpretar los procesos evolutivos responsables de la distribución actual de la especie o grupos de especies, lo cual permite hacer una reconstrucción filogeográfica (Avise, 2000). La filogeografía es la disciplina que estudia los principios y procesos que gobiernan la distribución geográfica de los linajes genealógicos, se considera como una subdisciplina de la biogeografía histórica, la cual integra conceptos y técnicas de la biología molecular, genética de poblaciones, demografía, sistemática filogenética, etología y paleontología (Avise, 2000). El estudio de la distribución geográfica de los linajes genealógicos ha sido ampliamente usado para describir los eventos históricos, como fragmentación de hábitats o expansión del rango de la distribución de las especies y poblaciones, eventos de migración, vicarianza, o extinción de linajes génicos, así como otros procesos que afectan la estructura de las poblaciones (Hardy *et al.*, 2002). Hay dos áreas de estudio que utilizan esta disciplina, por un lado la taxonomía, para el reconocimiento y delimitación de especies y por otro, su uso específico en biología de la conservación, para definir unidades de conservación y manejo. Analizar la diversidad genética a nivel intraespecífico (por abajo del nivel de especie) es un tema aún en discusión y es donde la filogeografía como herramienta toma un papel relevante (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009).

Sin embargo, hacer inferencias acerca de la estructura poblacional exclusivamente con ADNmt puede ser arriesgado, ya que interviene un locus de copia única, el cual puede estar sujeto a selección, puede presentar introgresión, y si hay diferencias etológicas o ecológicas entre hembras y machos sería imposible identificar su dispersión entre poblaciones, por lo que

debe ser corroborado por la evidencia nuclear. Ambos marcadores deben concurrir para poblaciones no estructuradas geográficamente y para poblaciones que tienen una gran historia de separación (Zink y Barrowclough, 2008).

Taxonomía de *Meleagris gallopavo* L.

En México se encuentran las dos especies conocidas de guajolote, *M. ocellata* (Guajolote del Monte), que se localiza solamente en el sureste de México y en zonas colindantes de Guatemala y Honduras y *Meleagris gallopavo* (Guajolote Norteño), de la cual procede el guajolote doméstico (Leopold, 1990) y cuya posición taxonómica es la siguiente:

REINO: Animalia

FILO: Chordata

CLASE: Aves

SUPERORDEN: Neognathae

ORDEN: Galliformes

FAMILIA: Phasianidae

SUBFAMILIA: Meleagridinae

GÉNERO: *Meleagris*

ESPECIE: *Meleagris gallopavo* L.

El nombre científico del guajolote silvestre fue designado por Carlos Lineo en 1758, quien basó su descripción en los guajolotes domésticos importados a Europa de México. Actualmente, de acuerdo con la distribución geográfica (Fig. 1), la morfología y algunos estudios con marcadores moleculares, se ha propuesto que la especie *Meleagris gallopavo* comprenda seis subespecies: *Meleagris g. gallopavo* (doméstico), *M. g. intermedia* (Río Grande), *M. g. merriami* (Merriam), *M. g. mexicana* (Gould), *M. g. osceola* (de la Florida) y *Meleagris g. silvestris* (Silvestre) (Stangel *et al.*, 1992; Mock *et al.*, 2002).

Proceso de domesticación en México.

El guajolote doméstico de traspatio (*Meleagris g. gallopavo*), es una ave autóctona de México, la cual sufrió un proceso de domesticación que inició en el año 7000 a. C. hasta 3500 a.C. (Valadez, 2003b) por los grupos étnicos que habitaban en la región de Mesoamérica. Los Mayas y Aztecas lo utilizaban como una fuente de carne, sus plumas eran utilizadas como piezas ornamentales y sus huesos como herramientas, pero también tuvo importancia religiosa, aunque en el periodo Clásico la perdió (Valadez, *et al.*, 2001). Los huesos más antiguos se hallan en sitios del centro de México donde hace 3000 años había pequeñas aldeas de unas decenas de habitantes y corresponden al periodo Formativo que va de 1300 a. C. al 300 d. C.,

los materiales óseos de guajolote son restos de alimento abandonado en basureros u ofrendas colocadas dentro de los entierros. En esa época ya existían culturas desarrolladas como la Olmeca y la Zapoteca, pero no hay reporte de huesos de guajolote en los sitios donde vivieron estos pueblos, Tabasco y Oaxaca respectivamente. Al parecer los guajolotes domésticos eran conocidos y aprovechados en pocos lugares del centro de México (Valadez, 2003a).

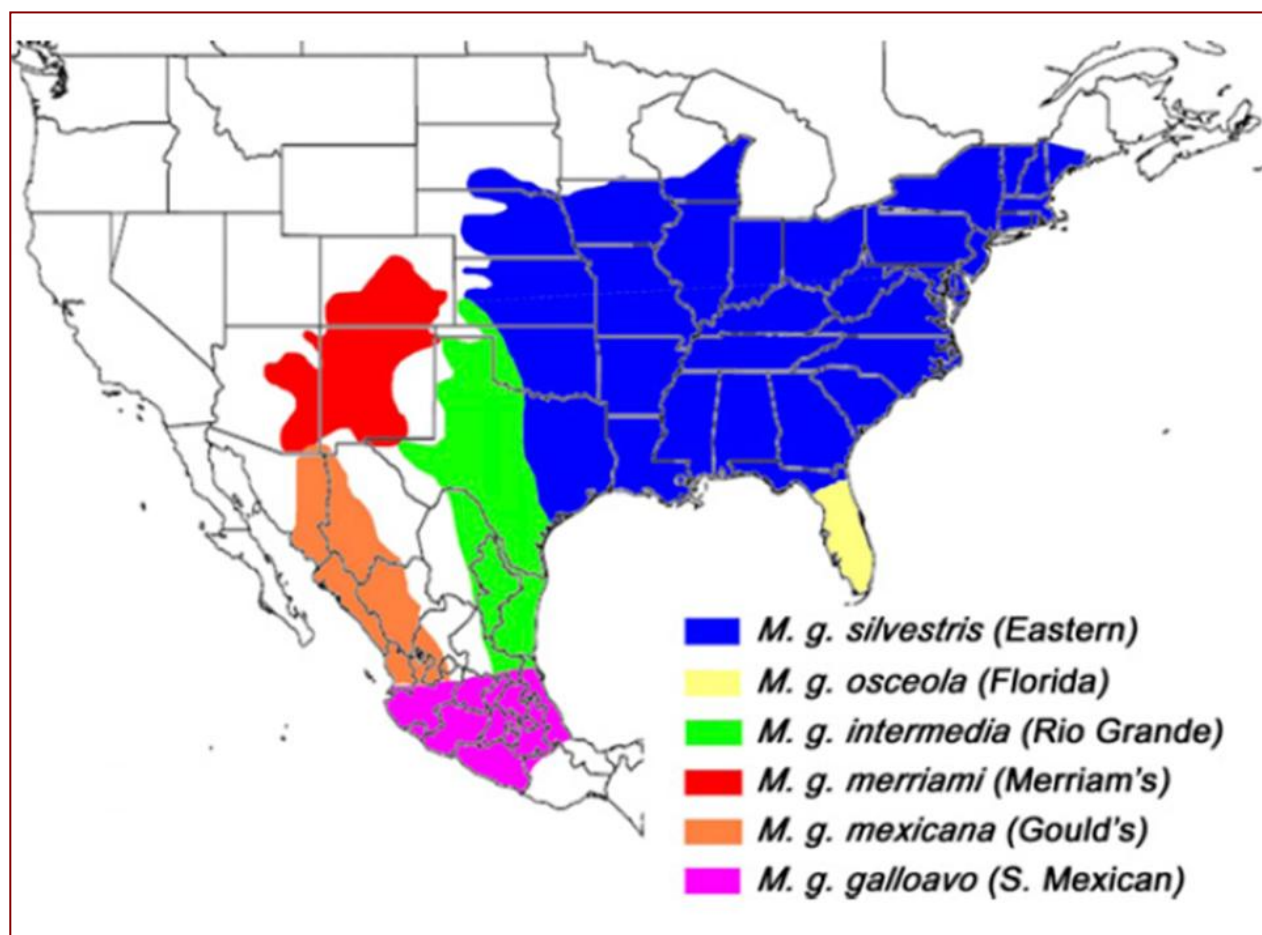


Figura 1. Distribución histórica de las seis subespecies de *Meleagris gallopavo* L. (Tomado de Speller *et al.*, 2009).

Caracterización fenotípica, productiva y socioeconómica del guajolote doméstico de traspatio en Michoacán.

En Michoacán los guajolotes de traspatio son criados bajo un sistema de producción no tecnificado (94.4%) que para varias regiones del estado se caracteriza, entre otros aspectos, por mantener a las aves en traspatios sin cobertizos o gallinero y durmiendo en árboles secos o

vivos (López-Zavala *et al.*, 2008a). Con base en los estudios en poblaciones de guajolote doméstico de traspatio que se realizaron en las cinco regiones fisiográficas del estado de Michoacán se determinó que el rango del tamaño de la parvada es de 2 a 57 individuos, siendo mayor en la región Bajío, intermedio para las regiones Sierra y Costa, y el más bajo para las regiones Faja Volcánica Transmexicana y Balsas, con una unidad productiva (UP) promedio de 7.20 a 14.8 aves. La relación hembra macho es de 1.69 a 3.69 hembras por macho. El peso en adultos mayores de 12 meses fue de 6.70 a 8.90 Kg machos y 2.90 a 4.35 Kg hembras, las aves más pesadas se localizaron en las regiones de clima templado. El 94.3% de las unidades son no tecnificadas, el esquema de vacunación es poco o nulo y sin utilización de variedades mejoradas, lo que indica que el tipo genético de guajolote es autóctono, por lo que es un fondo genético propio. Los nacimientos ocurren en todas las estaciones del año, preferentemente en primavera-verano, principalmente en las regiones Sierra y Costa. El rango del número de huevos es de 12 a 15 por evento de anidamiento que ocurre hasta tres veces al año (López-Zavala *et al.*, 2008a).

La proporción del color del plumaje fue similar en todas las regiones fisiográficas encontrándose el negro (38%), negro con blanco (20%), blanco con negro (20%), café (7%), blanco (5%) y gris (2%). El motivo principal de crianza de los guajolotes de traspatio es por tradición familiar y la mujer es la que lleva a cabo las labores de crianza y atención, proporcionándole una alimentación basada principalmente en maíz (entero, quebrado, nixtamalizado, tortilla), frutos según la región, además de lo que obtienen al pastorear cuando están libres en los pastizales o huertos (López-Zavala *et al.*, 2008b).

La característica morfológica del largo de cuerpo promedio fue similar para cuatro de las regiones, mientras que en la región Costa fue menor tanto en hembras como machos al igual que su peso y envergadura (Cuadros 1 y 2), esto sugirió una estructura ósea más pequeña que marca una diferencia morfométrica de esta región con respecto a las otras cuatro. Con relación a la región Sierra, se registró una envergadura que no fue proporcional con los pesos registrados y su peso promedio es fue bajo y similar al de las aves de la región Costa (López-Zavala *et al.*, 2008b).

Cuadro 1. Características morfométricas de las hembras adultas (10 a 18 meses) de guajolote de traspatio de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán, México.

Parámetro	Regiones fisiográficas				
	Bajío	FVT	Balsas	Sierra	Costa
<i>Peso (Kg)</i>					
Promedio	4.15b	4.82b	3.26a	2.97a	2.93a
Desv est	0.48	0.17	1.17	0.40	0.32
<i>Largo de cuerpo (Cm)</i>					
Promedio	82.45b	79.00b	82.78b	82.75b	71.67a
Desv est	7.17	0.03	4.86	8.11	3.76
<i>Envergadura (Cm)</i>					
Promedio	103.90b	103.20b	97.76b	86.5a	88.16a
Desv est	6.10	7.70	14.02	8.80	8.70

Literales diferentes en fila son estadísticamente significativas ($P < .05$) (López-Zavala *et al.*, 2008)

Cuadro 2. Características morfométricas de los machos adultos (10 a 18 meses) de guajolote de traspatio de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán, México.

Parámetro	Regiones Fisiográficas				
	Bajío	FVT	Balsas	Sierra	Costa
<i>Peso (Kg)</i>					
Promedio	7.86b	9.09b	7.40b	6.90a	7.10a
Desv est	0.89	2.17	1.47	0.92	0.18
<i>Largo de cuerpo (Cm)</i>					
Promedio	94.51b	94.13b	94.81b	95.95b	85.71a
Desv est	5.20	7.09	3.95	3.20	4.40
<i>Envergadura (Cm)</i>					
Promedio	113.50b	113.75b	110.33b	95.35a	93.14a
Desv est	9.89	6.95	12.21	3.40	4.20

Literales diferentes en fila son significativas ($P < .01$) (López-Zavala *et al.*, 2008)

Estudios moleculares en *Meleagris gallopavo* L.

Como se mencionó anteriormente, la mayoría de los estudios moleculares se han realizado en el guajolote silvestre para evaluar impacto por la reintroducción, polimorfismo dentro y entre las poblaciones, especiación, la distancia y flujo génico con marcadores tipo AFLP, microsatélite y ADNmt (Smith *et al.*, 1996; Szalanski *et al.*, 2000; Mock *et al.*, 2002, 2004). En un estudio donde se incluyeron las cinco subespecies de guajolote silvestre se analizó un total de 245 individuos utilizando 438 pb de la región control del ADNmt y se obtuvieron 42 haplotipos, también utilizaron microsatélites y AFLP, ellos concluyeron que las denominaciones actuales para las subespecies están soportadas, excepto para *M. g. silvestris* y *M. g. osceola*, las cuales forman un grupo distinto al resto de las subespecies (Mock *et al.*, 2002).

En un estudio de genotipificación con RAPD's se reportó la detección de una mayor diversidad genética en dos poblaciones de guajolotes criados en algunas localidades de Michoacán que en otras criadas en Puebla, sugiriendo que las poblaciones de Michoacán descienden de una población históricamente grande (Nei, 1972) (Chassin-Noria et al., 2005). Por lo anterior, con el objetivo de establecer los niveles de diversidad de poblaciones de guajolote doméstico de traspatio de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán se realizó un análisis genético molecular mediante el uso de siete loci microsatélites. Los resultados mostraron una diversidad genética alta dentro de las poblaciones, obteniendo un total de 160 alelos con una heterocigotidad promedio de 0.535, encontrándose en la región Balsas el valor más alto (0.668) y la región Costa el más bajo (0.383); ambas regiones presentan un menor manejo por sus criadoras, apareamiento al azar y los guajolotes no se encuentran en confinamiento. Las poblaciones de guajolote doméstico de traspatio en el estado de Michoacán se organizan en tres grupos según sus distancias genéticas (Fig. 2a), que están correlacionados parcialmente con su distribución geográfica. El análisis de la estructura genética mostró tres poblaciones distintas genéticamente (Fig. 2b), la primera incluye a las poblaciones del Bajío y Balsas, la segunda a la población de Eje Neovolcánico Transversal y la tercera a las poblaciones de Sierra y Costa. Esta estructura poblacional se correlacionó con los datos morfométricos que mostraron diferencias en peso y envergadura; los guajolotes domésticos de traspatio de la Faja Volcánica Transmexicana son los más pesados y de mayor envergadura y las poblaciones de la Costa los más ligeros y de menor envergadura (López-Zavala *et al.*, en prensa).

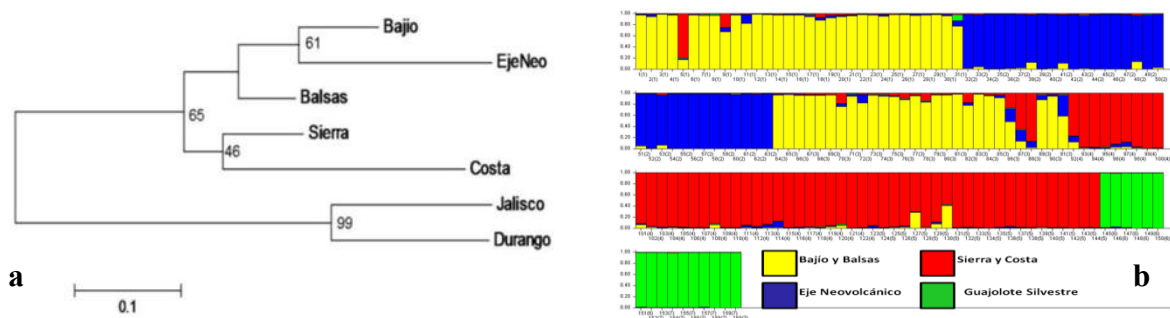


Figura 2. Análisis mediante el uso de 7 loci microsatélites en el guajolote doméstico y silvestre. En a) Árbol de distancia con el método Neighbor-Joining usando las distancias genéticas de Nei. En b) Estructura genética, cada barra representa un individuo y cada color un grupo genético, Balsas y Bajío (amarillo), Faja Volcánica Transmexicana (azul), Sierra y Costa (rojo) y silvestre (verde).

Actualmente, se cuenta con la secuencia del genoma mitocondrial total del guajolote, el cual tiene un tamaño de 16, 717 pb y los nucleótidos con mayor frecuencia en la cadena H es A, seguida de C, T y G y el contenido de GC es de 43.5%, lo cual parece ser consistente con el promedio encontrado en vertebrados, pero mucho menor que el del gallo (46%) y el ganso (47%) (Guan et al., 2009). En el primer estudio realizado para encontrar linajes maternos se analizaron 438 pb de la Región Control del ADNmt de un total de 159 muestras de guajolote domesticado, incluidas 126 huesos y 17 coprolitos encontradas en 38 sitios arqueológicos (200 A.C.- 1800 D.C.) del suroeste de Estados Unidos, y cuatro muestras de piel obtenidas del Museo Nacional de Historia Natural del Instituto Smithsonian, colectadas en Michoacán y Veracruz en el año 1903 etiquetadas como *Meleagris g. gallopavo* silvestre, adicionalmente se analizaron 12 muestras de guajolote comercial y utilizaron 276 muestras de guajolote doméstico y silvestre de la base de datos del NCBI (Speller et al., 2009). Como resultado del análisis se encontró un total de 12 haplotipos que se organizan en 3 grupos (Fig.3), el H1 corresponde a muestras de guajolote doméstico de EUA, el H2 a muestras de guajolote silvestre y el H3 a muestras de museo de guajolote silvestre (*M. g. gallopavo*), y de mercados de guajolote doméstico de México. En base a los resultados del estudio, los autores proponen que existe una clara división entre las poblaciones domésticas del suroeste de Estados Unidos y las poblaciones de Mesoamérica, y debido a esta separación concluyen que ambas poblaciones tienen una historia y origen diferente (Speller et al., 2009).

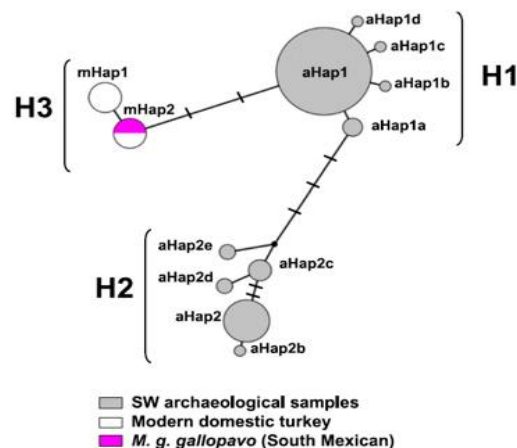


Figura 3. Red de haplotipos usando Median-Joining. Las muestras arqueológicas del Suroeste de EUA formando dos grupos (H1 y H2) y un tercer grupo (H3) obtenido de cinco muestras de *Meleagris g. gallopavo* silvestre y de 12 muestras obtenidas de productores de guajolote doméstico de la Isla de Vancouver, de Baja California y Canadá así como de supermercados de Estados Unidos y Canadá.

III. JUSTIFICACIÓN

Las variedades michoacanas y en general las de México no son reconocidas por no contar con un historial sobre su origen, por lo que la tipificación genética será útil para su identificación y registro, además el conocimiento de la relación genética de las poblaciones domésticas servirá para localizar núcleos para su conservación, pie de crías y desarrollo de estrategias de manejo de este recurso zoogenético a largo plazo.

IV. HIPÓTESIS

Las poblaciones de guajolote doméstico de traspatio del estado de Michoacán correspondientes a las regiones fisiográficas Bajío, Faja Volcánica Transmexicana, Balsas, Costa y Sierra descienden de una misma población ancestral.

V. OBJETIVOS

Objetivo general

- Estudiar la relación genética entre las poblaciones de guajolote doméstico de traspatio de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán.

Objetivos particulares

- Evaluar los niveles de diversidad (haplotipos) mediante análisis de secuencias de ADN mitocondrial.
- Establecer si la Región Costa descende de la misma población histórica a las otras cuatro regiones fisiográficas de Michoacán.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico.

Se utilizaron 148 muestras de sangre de guajolotes domesticados de traspatio *M. g. gallopavo*, hembras y machos de diferentes edades provenientes de localidades de las cinco regiones fisiográficas del estado de Michoacán, Bajío, Faja Volcánica Transmexicana, Balsas, Sierra y Costa (Madrigal, 1997). Adicionalmente se utilizaron dos muestras de guajolote domesticado de Puebla (sangre) de San Baltazar Azumiátla en el Municipio de Totimehuacán y Sto. Tomas Hueyotlipán en el municipio de Hueyotlipán, y cuatro muestras de Punta de Manabique, Guatemala (sangre). Se utilizaron nueve muestras de sangre de guajolote silvestre *M. g. mexicana* (Canatlán, Durango una población que ha sido reintroducida de Yécora, Sonora) y cuatro muestras de tejido de *M. g. intermedia* (Villa de Casas, Tamaulipas). Todas las muestras pertenecientes a la colección de muestras biológicas de guajolote mexicano del proyecto de investigación Rescate del Fondo Genético de Guajolote Mexicano del CMEB, UMSNH. Adicionalmente se colectaron dié debates muestras de una población de guajolote de la línea comercial Bronce de una Granja de producción de Ario de Rosales, Michoacán.

Extracción de ADN de muestras de sangre y tejido.

El ADN genómico total se extrajo de muestras de sangre o tejido almacenadas a 4°C, por medio de la técnica libre de fenol de FitzSimmons (1997). En microtubos de 1.5 ml se colocaron 30 µl de sangre ó una fracción de tejido del tamaño de un arroz y se incubaron con 400 µl de buffer de lisis (Tris 10 mM, EDTA 1 mM, NaCl 10 mM, SDS 1%) y 10 µl de proteinasa K (10mg/ml) (Sigma), por un periodo de 2 a 3 horas en caso de sangre y 12 a 24 horas en el caso de tejido a 60°C en un termomixer (Eppendorf) y se agitó por inversión cada 15 minutos en el caso de sangre y sin agitación en el caso de tejido. Concluido el tiempo de incubación, se adicionaron 170 µl de acetato de amonio 7.5 M y se mezcló por inversión, enseguida se congeló a -70°C durante 20 minutos. Posteriormente, se centrifugó a 13,000 rpm por 25 minutos en una microcentrifuga (Sorvall). El sobrenadante se transfirió a otro microtubo, inmediatamente se le adicionó 800 µl de isopropanol frío, se agitó por inversión, nuevamente y se almacenó a -70°C toda la noche. A continuación se centrifugó a 13,000 rpm por 25 minutos, se eliminó el sobrenadante y luego se lavó la pastilla con etanol frío al 70%.

Finalmente la pastilla se secó en un ultraconcentrador (Labconco) a 45°C por 15 minutos, se resuspendió en 45 µl de H₂O destilada desionizada estéril (H₂O_{dde}) y se almacenó a 4°C hasta su utilización.

Para revisar la integridad del ADN, las muestras se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1% con buffer TAE 1X (Tris-acetato 40 mM, EDTA 1 mM pH 8), buffer de carga tipo III 6X (Bromofenol 0.25%, xilencianol FF 0.25% y glicerol 30%) (Sambrook y Rusell, 2001), teñido con Sybr Gold 1X (Invitrogene) y con una corriente de 80 voltios durante 30 minutos, y se visualizaron en un fotodocumentador (Kodak Gel Logic 200).

Amplificación de ADN por Reacción en Cadena de la polimerasa (PCR).

Se utilizó un juego de oligonucleótidos reportados previamente para amplificar el marcador mitocondrial de la Región Control (RC) (Cuadro 3). En un microtubo de 0.2 ml se preparó la siguiente mezcla: 50 ng de ADN, 10 picomol de cada oligonucleótido, buffer para PCR 1X (20 mM Tris-HCl pH 8.4, 50 mM KCl), MgCl₂ 1.5 mM, 200 µM de cada dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), Platinum *Taq* DNA polimerasa 1.5 U (Invitrogene) y H₂O_{dde} en un volumen total de 25 µl. Las muestras se colocaron en un termociclador GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems) bajo las siguientes condiciones: 95°C, 5 min seguido de 30 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 1 min, alineamiento a 60°C durante un min y extensión a 72°C durante 2 min, y una extensión final a 72°C, durante 8 min.

Los productos de amplificación se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1% en buffer TAE 1X (Tris-acetato 40 mM, EDTA 1 mM pH 8), buffer de carga tipo III 6X (Bromofenol 0.25%, xilencianol FF 0.25% y glicerol 30%) (Sambrook y Rusell, 2001), teñido con Sybr Gold 1X (Invitrogene), el marcador de tamaño molecular 1Kb Plus DNA Ladder (Invitrogene) y con una corriente de 80 voltios durante 30 minutos, y se visualizaron en un fotodocumentador (Kodak Gel Logic 2000).

Cuadro 3. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación

Loci	Nombre	Secuencia	Tamaño esperado	Referencia
Región Control	NAU313 NAU185	5' GCCACCTGTGAAGAAGCC 3' 5' ACGGCTTGAAAAGCCATTGTTGT 3'	650 pb	(Mock <i>et al.</i> , 2002)

Secuenciación.

La secuenciación de ambas cadenas de ADN se realizó por el método de dideoxy (Sanger *et al.*, 1977), mediante el sistema comercial DNA Sequencing (BigDye v3.1 Terminador Cycle Sequencing Ready Reaction Applied Biosystems) y de manera automatizada en un AbiPrism 310 (Applied Biosystems)

Alineación y edición de secuencias.

Las secuencias fueron exploradas con Finch TV versión 1.4.0 y el alineamiento se realizó con el software Clustal X utilizando como referencia la Región Control del genoma secuenciado del ADNmt de *Meleagris gallopavo* (GenBank No. Acceso: EF153719), enseguida se editaron con BioEdit sequence (Hall, 1999).

Análisis de secuencias.

A partir de las secuencias con 438 pb se obtuvo el número de sitios polimórficos o segregantes (S), el índice de diversidad haplotípica (h), el índice de diversidad nucleotídica (π) con el software DNAsP ver 5.10 (Librado y Rozas, 2009). La diversidad haplotípica (h) refleja la probabilidad de que dos secuencias sean diferentes. La diversidad nucleotídica (π) refleja la probabilidad de que dos nucleótidos sean diferentes. Los sitios segregantes (S) son sitios variables en un nucleótido dentro de una secuencia (Freeland, 2005).

Se estableció el modelo de evolución molecular calculado en jModelTest v.0.1.1 (Posada, 2008) bajo el criterio de Información de Akaike (AIC) (Alfaro y Huelsenbeck, 2006).

Para establecer las relaciones históricas de parentesco entre los haplotipos se realizaron dos análisis, el primero de distancia con el método Neighbor Joining con 2000 réplicas de Bootstrap en el programa PAUP (Análisis Filogenético Usando Parsimonia) versión 4.0b10 (Swofford, 2001), y el segundo, un análisis Bayesiano de 1×10^6 generaciones usando dos Cadenas de Markov de Montecarlo (MCMC) con las opciones por default usando Mr. Bayes ver.3.1.2 (Huelsenbeck, y Ronquist, 2001). Los árboles fueron muestreados cada 2,000 generaciones, resultando en 5000 árboles, de los cuales el 10% fueron descartados y con el resto se construyó un árbol de consenso de mayoría con el 50% de la probabilidades Bayesianas posteriores. Probabilidades posteriores (PP) mayores a 95% son consideradas como soporte significativo para un clado (Ronquist y Huelsenbeck, 2003).

Para los análisis anteriores se utilizaron los 42 haplotipos que se obtuvieron para guajolotes silvestres (Mock *et al.*, 2002) (GenBank No. Acceso AF486875–AF487121) y los 12 haplotipos encontrados en muestras arqueológicas y de museo (Speller *et al.*, 2009) (GenBank No. Acceso: GQ303154-GQ303165). Como grupo externo se utilizaron secuencias reportadas para *Meleagris ocellata* (GenBank No. Acceso: AF487120.1 y AF487121.1).

Las relaciones entre los haplotipos se establecieron mediante el método Median-joining con el software NETWORK versión 4.6.0.0., este método al construir las redes combina el algoritmo de Kruskal para encontrar árboles de expansión mínima favoreciendo conexiones cortas y el algoritmo heurístico de máxima parsimonia de Farris (MP), el cual agrega secuencialmente nuevas vértices llamadas vectores (Bandelt *et al.*, 1999).

VII. RESULTADOS

Amplificación de la Región Control del ADNmt.

Se obtuvo un total de 176 amplificaciones de 650 pares de base (pb) de la Región Control del ADNmt (Fig. 4), 148 correspondientes al guajolote doméstico de traspatio del estado de Michoacán, dos al estado de Puebla y las cuatro de Guatemala. Nueve amplificaciones de guajolote silvestre *Meleagris g. mexicana* de Canatlan, Durango y cuatro de *Meleagris g. intermedia* de Villa de Casas, Tamaulipas. También las nueve amplificaciones de guajolote de la línea comercial Bronce.

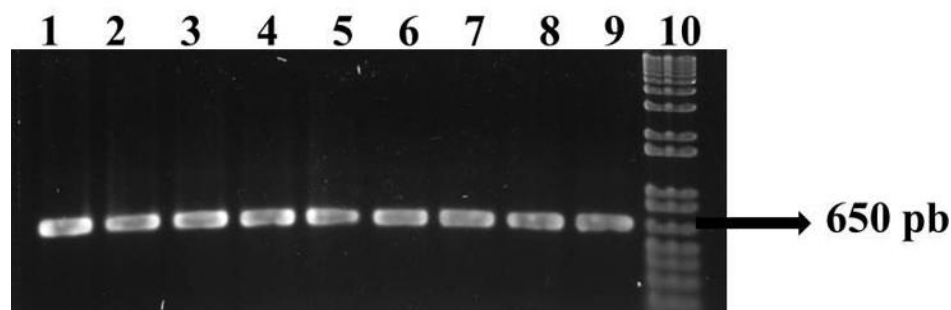


Figura 4. Amplificación de un fragmento de la Región Control del ADN mitocondrial. Gel de agarosa al 1%, en TAE 1X. Carril 1-9) fragmento esperado de 650 pb de ADNmt de *Meleagris g. gallopavo*. Carril 10) marcador de tamaño molecular 1kb plus de 1200-100 pb.

Alineamiento y edición de secuencias.

Las 176 secuencias de este estudio se alinearon con el genoma del ADNmt de *Meleagris gallopavo* (GenBank No. Acceso: EF153719) y como resultado de la edición se obtuvo un total de 571 pb, pero para fines comparativos solo se utilizaron 438 pb, ya que este fue el tamaño de las secuencias utilizadas de la base de datos del NCBI.

Diversidad genética.

Se analizaron 438 pb de la Región Control del ADNmt de 176 individuos y se encontraron 31 haplotipos, seis de ellos se comparten entre las poblaciones de guajolote (doméstico, silvestre y comercial), obteniéndose un total de 25 haplotipos (Cuadro 4.), 19 de los cuales no se habían reportado en la literatura.

Cuadro 4. Secuencias correspondientes a los 25 Haplotipos de la Región control obtenidos en este estudio.

	Sitio	15579	15617	15625	15627	15633	15657	15677	15679	15686	15708	15717	15727	15778	15784	15793	15794	15799	15801	15808	15814	15893	15953	15958	15999	Frecuencia Individuos	
	EF153719	C	A	C	T	T	A	T	C	C	G	A	A	C	T	C	A	T	C	T	G	G	T	C	C		
1	MICH2	41
2	MICH1/Bsilv	C	.	.	.	100
3	1Zaca7*	.	T	.	.	.	T	C	.	.	1	
4	1Inda8*	A	G	C	.	.	1	
5	B1MICH/AC	.	.	T	C	.	.	3	
6	B2MICH*	G	C	.	.	2	
7	B3MICH*	A	C	.	.	3	
8	1Capu3*	A	A	C	.	.	1	
9	ECMICH*	.	.	T	3	
10	2Livi1*	C	G	.	1	
11	BSMICH*	A	.	.	.	C	.	.	3	
12	3Tiqu4*	G	1	
13	T/SMICH	T	2	
14	5Coah3*	A	.	.	.	1	
15	5Coah8*	G	1	
16	5Aqui13*	.	.	T	A	.	.	.	1	
17	P28PUE	C	.	.	.	C	.	.	1	
18	Asilv/M	C	T	T	.	.	C	.	.	.	C	.	T	3	
19	Csilv*	C	T	.	.	.	T	.	T	G	.	.	C	.	A	C	.	T	1		
20	Dsilv*	C	C	.	.	1	
21	Esilv*	C	T	.	.	.	T	.	T	.	.	.	C	.	.	.	C	.	T	1	
22	Fsilv*	C	T	.	.	.	T	.	T	G	.	.	C	.	.	.	C	.	T	1	
23	Gsilv*	.	.	.	A	.	.	C	T	T	.	.	.	C	.	.	.	C	.	T	1	
24	9comer*	C	1	
25	18comer*	A	C	.	.	1	

*Haplotipos no reportados por la literatura.

En el Cuadro 5 se muestran los resultados del análisis de la diversidad de haplotipos. De los 148 individuos analizados para las poblaciones de guajolote doméstico de traspatio de Michoacán se encontraron 16 haplotipos. Entre los haplotipos para Michoacán, la prueba de Tajima mostró un valor negativo no significativo $D = -1.720$. Como se puede observar, la población silvestre de Durango presentó los valores más altos en cuanto a número de haplotipos, (siete haplotipos en nueve individuos), diversidad haplotípica y nucleotídica, y diferencias nucleotídicas en comparación con la población de guajolote domesticado de Michoacán. Sin embargo, los cuatro individuos silvestres de Tamaulipas correspondieron únicamente a un haplotipo por lo que no se pudo calcular ninguno de los parámetros considerados. Este último se encontró también en los cuatro individuos domesticados de

Guatemala. Para fines comparativos de las seis subespecies propuestas, se analizó como una población a los individuos de Michoacán y Puebla para *M. g. gallopavo*, y los datos de este estudio con los reportados en NCBI para *M. g. mexicana*.

Cuadro 5. Datos obtenidos de la diversidad de haplotipos de los individuos analizados de Guajolote doméstico y silvestre.

Población	n¹	H²	S³	Pi⁴	Hd⁵	π⁶	k⁷
Doméstico							
Michoacán	148	16	13	6	0.576	0.00150	0.767
Guatemala	4	1	-	-	-	-	-
Puebla	2	2	-	-	-	-	-
Silvestre							
Durango	9	7	10	7	0.917	0.00799	3.5
Tamaulipas	4	1	-	-	-	-	-
Comercial							
Bronce	9	4	3	1	0.583	0.00190	0.833
<i>Meleagris g. gallopavo</i> (Michoacán y Puebla)	150	17	14	6	0.584	0.00178	0.778
<i>Meleagris g. mexicana</i> *	34	8	11	7	0.374	0.00248	1.086

¹Número de individuos. ²Haplotipos. ³Sitios polimórficos. ⁴Sitios Parsimoniosos. ⁵Diversidad haplotípica. ⁶Diversidad nucleotídica. ⁷Diferencias nucleotídicas. * Se utilizaron los individuos de este estudio y los reportados por Mock *et al.*, 2002.

Análisis filogenético de *Meleagris gallopavo* L.

El modelo de evolución molecular seleccionado por jModelTest v.0.1.1 bajo el criterio de Información de Akaike (AIC) fue Tamura-Nei (1993) (TrN+I+G freqA = 0.2853 freqC = 0.3043 freqG = 0.1285 freqT = 0.2819) con el parámetro gamma= 0.4760. Se construyeron los dos árboles (distancia y bayesiano) con este modelo de sustitución. Para ambos análisis se utilizaron un total de 65 haplotipos reportados para individuos de guajolotes silvestres (Mock *et al.*, 2002), las muestras arqueológicas y de museo (Speller *et al.*, 2009) y los obtenidos en este estudio, que incluye a los guajolotes domésticos (Michoacán, Puebla, Guatemala), guajolotes silvestres (*Meleagris g. mexicana* y *Meleagris g. intermedia*) y la línea comercial Bronce.

En el árbol bayesiano (Fig. 5) podemos observar que hay cuatro grupos definidos de haplotipos, el basal corresponde con un 100% de confiabilidad al primer grupo perteneciente

a la subespecie *Meleagris g. mexicana*, que agrupa los haplotipos Fsilv, Csilv, Esilv, Gsilv, M (Asilv, Hsilv, Isilv y a haplotipo arqueológico aHap2e) y al haplotipo aHap2d (Mock *et al.*, 2002, Speller *et al.*, 2009), pero los haplotipos Bsilv y Dsilv se agrupan con los guajolotes domésticos. Podemos observar que *Meleagris g. mexicana* se separa del resto de las demás subespecies con un 61% de confiabilidad. Dentro de esta subdivisión podemos observar como segundo grupo a la subespecie *Meleagris g. merriami* con ocho haplotipos formando un clado con el 98% de confiabilidad, relacionado con haplotipos de la subespecie *M. g. intermedia* y el haplotipo I que no se agrupó en el clado de *merriami*. En seguida hay otra subdivisión con un 95% de confiabilidad el cual incluye nuevamente los haplotipos *M. g. intermedia*, *M. g. osceola*, *M. g. silvestris*, *M. g. gallopavo* y los haplotipos Bsilv y Dsilv de *Meleagris g. mexicana*. Existe un subclado con un 74% de confiabilidad que agrupa las muestras arqueológicas Suroeste de EUA, que se encuentra cercano al haplotipo P. En la parte superior del árbol se encuentran los haplotipos del guajolote doméstico de traspatio de Michoacán, Puebla y Guatemala, como un cuarto grupo, compartiendo con los haplotipos de *M. g. intermedia*.

La topología del árbol del análisis de distancia (Fig. 6) difiere con el árbol bayesiano en el haplotipo aHap2d, el cual se agrupa con los haplotipos *Meleagris g. merriami* y uno de *Meleagris g. intermedia* (grupo 2). En el grupo 3 se incluye *Meleagris g. intermedia*, *Meleagris g. osceola* y *Meleagris g. silvestre*, en esta misma agrupación se puede observar que el haplotipo P se relaciona con los haplotipos del SO de EUA. Los haplotipos que representan los guajolotes domésticos de traspatio de México se subdividen en dos clados, uno correspondiente a AD (MICH1) y el otro FAA23 (MICH2).

En ambos árboles se observa que el grupo externo (*Meleagris ocellata*) está completamente diferenciado con respecto a la especie de *Meleagris gallopavo*, pero no hubo soporte en las ramas en el árbol de distancia, por lo que la comparación será basada en el árbol bayesiano.

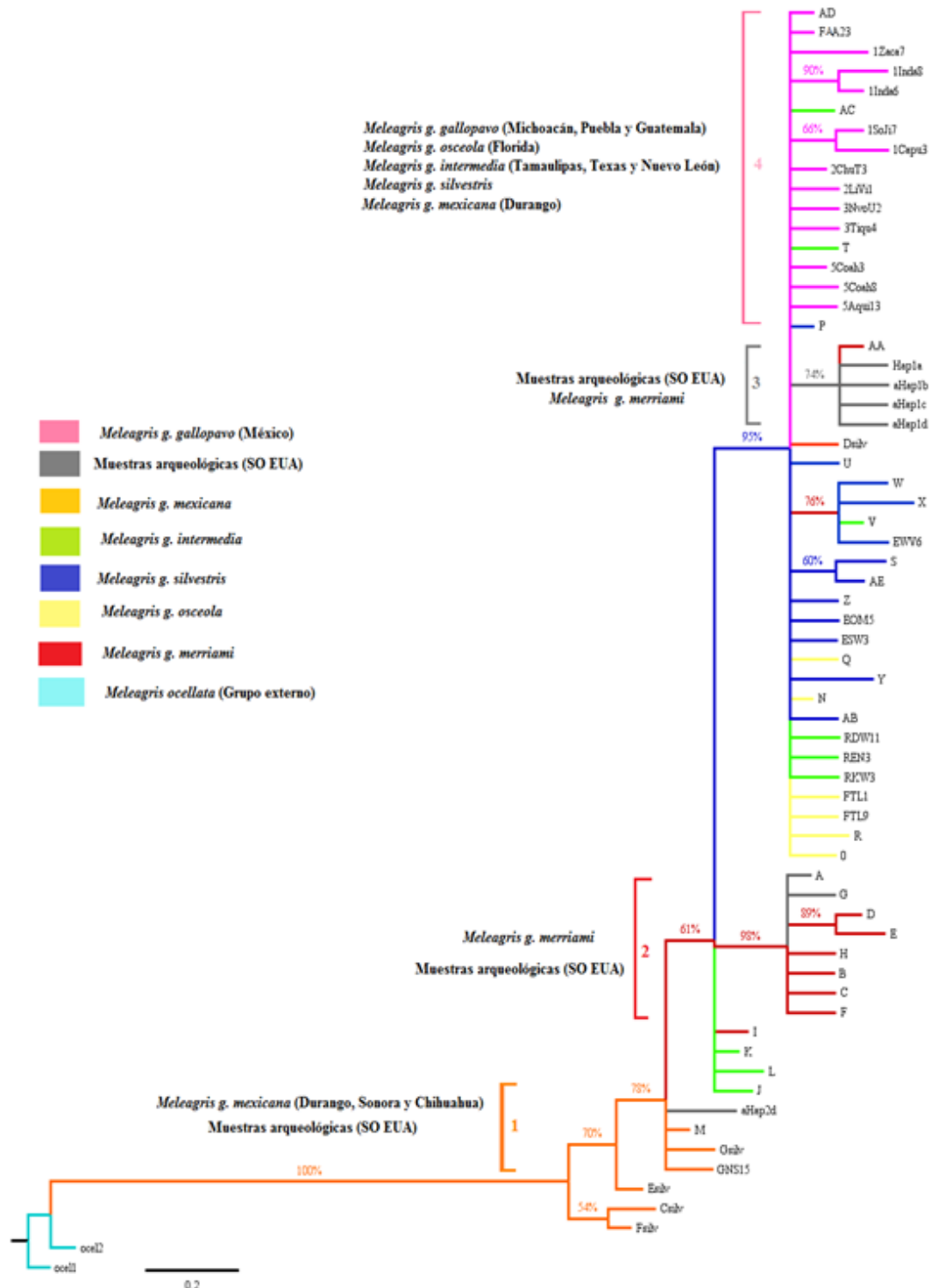


Figura 5. Árbol generado por un análisis bayesiano con 1×10^6 generaciones usando dos cadenas MCMC. Relación de los 65 haplotipos de las seis subespecies de *Meleagris gallopavo*. Las ramas terminales de color rosa corresponden a los haplotipos encontrados en el estado de Michoacán. Las ramas terminales grises agrupan los haplotipos del Suroeste de EUA (Speller *et al.*, 2009). AD es MICH1 y FFA23 es MICH2.

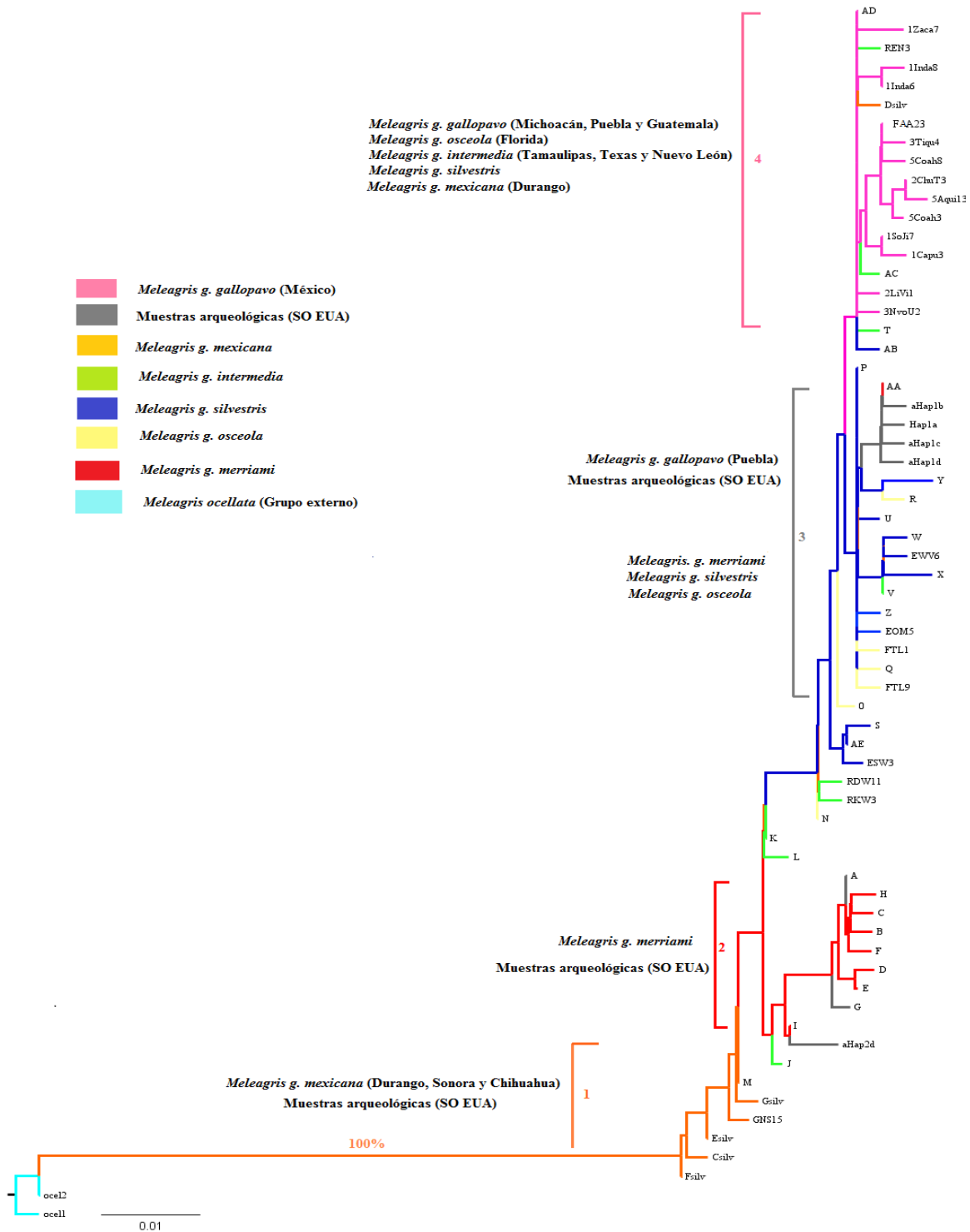


Figura 6. Árbol de distancia por el método Neighbor Joining con el modelo de sustitución de Tamura –Nei (1993). Relación de los 65 haplotipos de las seis subespecies de *Meleagris gallopavo*. Las ramas terminales de color rosa corresponden a los haplotipos encontrados en el estado de Michoacán. Las ramas terminales grises agrupan a los haplotipos del Suroeste de EUA (Speller *et al.*, 2009). AD es MICH1 y FFA23 es MICH2.

Análisis de relación entre los haplotipos del estado de Michoacán.

En la figura 7 se muestra la red de los 16 haplotipos encontrados en el estado de Michoacán construida por el método Median-Joining, donde se observa que el 60% de los individuos (n=90) correspondieron a un haplotipo al cual se le designó como MICH1 y el 23.6% (n=35) correspondió a un segundo haplotipo designado como MICH2. El haplotipo MICH1 se comparte con los individuos de las cinco regiones fisiográficas y se relaciona con seis haplotipos de la región Bajío designados como 1Zaca7, 1Inda8, B1MICH, B2MICH, B3MICH, 1Capu3, un haplotipo exclusivo de la Faja Volcánica Transmexicana designado como 2LiVi1, uno compartido entre Bajío y Sierra designado como BSMICH y finalmente uno de la región Sierra designado como SMICH. El haplotipo MICH2 también se comparte con los individuos de las cinco regiones fisiográficas y se relacionó con tres haplotipos exclusivos de la región Costa designados 5Coah3, 5Coah8, 5Aqui13, un haplotipo exclusivo de la región Balsas designado 3Tiqu4 y un haplotipo compartido entre Faja Volcánica Transmexicana y Costa designado como ECMICH.

Análisis de relación entre los haplotipos del estado de Michoacán y otros haplotipos de guajolote doméstico.

Se realizó un análisis de relación por el método Median-Joining de los haplotipos de Michoacán con los de Puebla, Guatemala y los de la línea comercial Bronce, así como con los haplotipos de muestras arqueológicas de guajolote domesticado del Suroeste de Estados Unidos y del Museo Smithsonian, previamente reportados (Speller *et al.*, 2009). En la figura 8 se muestra el resultado de este análisis. Se encontró que los cuatro individuos de Guatemala y uno de la línea comercial Bronce comparten el haplotipo MICH1, el cual resultó ser el mismo reportado como mHap2 para cuatro muestras provenientes del Museo Smithsonian, etiquetadas como *Meleagris g. gallopavo* silvestre; tres colectadas en Michoacán y una en Veracruz en el año 1903. El haplotipo MICH2 se encontró en un individuo de Puebla y seis de la línea comercial Bronce analizadas. El otro individuo de Puebla presentó un haplotipo exclusivo designado como P28 que se relacionó con el haplotipo aHap1 encontrado en las muestras arqueológicas del Suroeste de EUA. Los dos haplotipos restantes de la línea comercial Bronce designados como 18COME y 9COME se relacionaron con MICH1 y MICH2 respectivamente.

Análisis de relación entre los haplotipos de guajolote doméstico y silvestre.

Para este análisis se utilizaron los haplotipos de guajolote doméstico de este estudio, los reportados para muestras arqueológicas del Suroeste de Estados Unidos, los del museo Smithsonian y los obtenidos en este estudio a partir de muestras de guajolote silvestre mexicano, así como los haplotipos reportados para el resto de las subespecies silvestres. Como se puede observar en la figura 9 el haplotipo mHap2 obtenido de muestras de museo de *Meleagris g. gallopavo* silvestre y en individuos de guajolote comercial (Speller *et al.*, 2009) es el mismo haplotipo que se obtuvo con mayor frecuencia en los guajolotes domésticos de traspatio de Michoacán (MICH1). Los cuatro individuos de *M. g. intermedia* de Tamaulipas analizados en este estudio, también compartieron el mismo haplotipo, el cual ya había sido reportado en la misma subespecie como haplotipo AD (Mock *et al.*, 2002), pero este no se tenía descrito para *M. g. mexicana* designado como Bsylv por este estudio.

El haplotipo AD (MICH1) se relaciona con 14 haplotipos, de los cuales ya estaba reportados previamente REN3 para *M. g. intermedia*, O para *M. g. osceola* y AB para *M. g. silvestris*, el haplotipo Dsylv no se habían descrito para *M. g. mexicana*. Los haplotipos B1MICH y SMICH identificados para Michoacán, fueron previamente reportados para *M. g. intermedia* como AC y T respectivamente. El haplotipo MICH2, el cual ya se había reportado para un individuo de *M. g. osceola* como FAA23 (Mock *et al.*, 2002), es el mismo que se encontró en los individuos comerciales (mHap1) (Speller *et al.*, 2009).

El haplotipo P28 descrito en este estudio para un individuo doméstico de traspatio de Puebla correspondió al haplotipo P que en su mayor porcentaje está representado por *Meleagris g. silvestris* seguido por *M. g. intermedia* y en menor porcentaje por *M. g. osceola* y *M. g. merriami*, el cual se relacionó con 12 haplotipos (Mock *et al.*, 2002) incluido el haplotipo aHap1 encontrado en las muestras arqueológicas del Suroeste de EUA.

Los siete haplotipos restantes obtenidos en este estudio para *M. g. mexicana*, cuatro designados como Csylv, Esylv, Fsylv y Gsylv que no se han reportado previamente, se relacionan con el haplotipo M reportado en mayor frecuencia para esta subespecie (Mock *et al.*, 2002), el cual incluye los tres denominados en este estudio como Asylv, Hsylv, Isylv, y las muestras arqueológicas extraídas del sitio Calderón en Chihuahua cuyo haplotipo es

denominado aHap2e (Speller *et al.*, 2009). El haplotipo M también se relaciona con el haplotipo aHap2d correspondientes a muestras arqueológicas encontradas en Arizona.

Con el análisis de todos los haplotipos encontrados en la base de datos del NCBI, se puede establecer hasta el momento, que hay 12 haplotipos exclusivos para *M. g. gallopavo* (guajolote doméstico de traspatio) correspondiente al estado de Michoacán y dos haplotipos representativos de la línea comercial Bronce.

El haplotipo aHap1 encontrado en las muestras arqueológicas del Suroeste de EUA, correspondientes a individuos de guajolote domesticado (Speller *et al.*, 2009), ya estaba reportado en la subespecie *M. g. merriami* como AA, (Mock *et al.*, 2002), el cual en la figura 9 se puede observar que se relaciona con el haplotipo P correspondiente a *M. g. silvestris*.

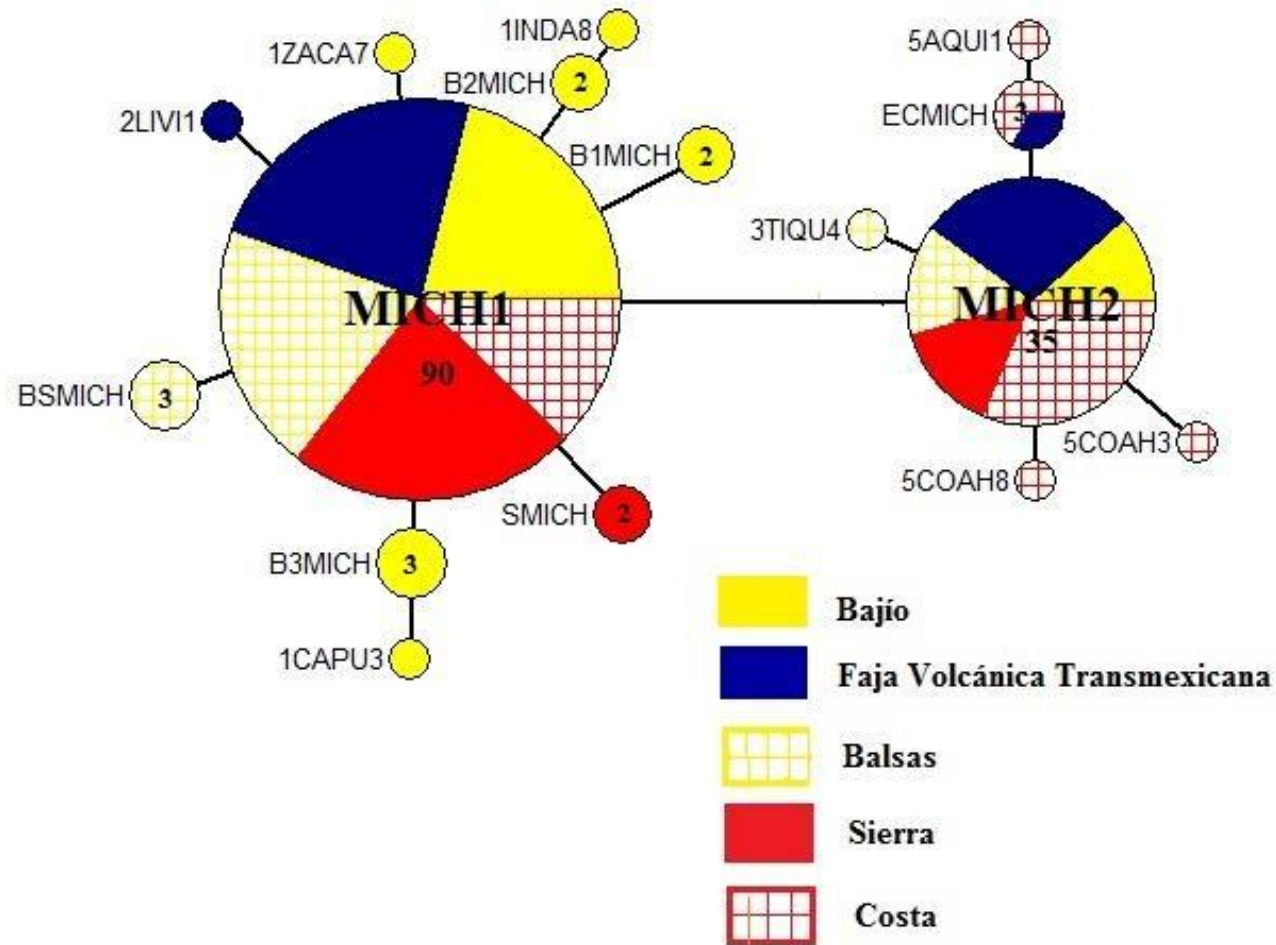


Figura 7. Red de haplotipos de los guajolotes de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán usando Median-Joining. Relaciones de los 16 haplotipos encontrados en 148 individuos de guajolote doméstico de traspatio del estado de Michoacán. Cada círculo representa un haplotipo y el número indica los individuos encontrados en cada uno. MICH1 corresponde al haplotipo AD y mHap2 y MICH2 corresponde al FAA23 y mHap1 (Mock *et al.*, 2002; Speller *et al.*, 2009).

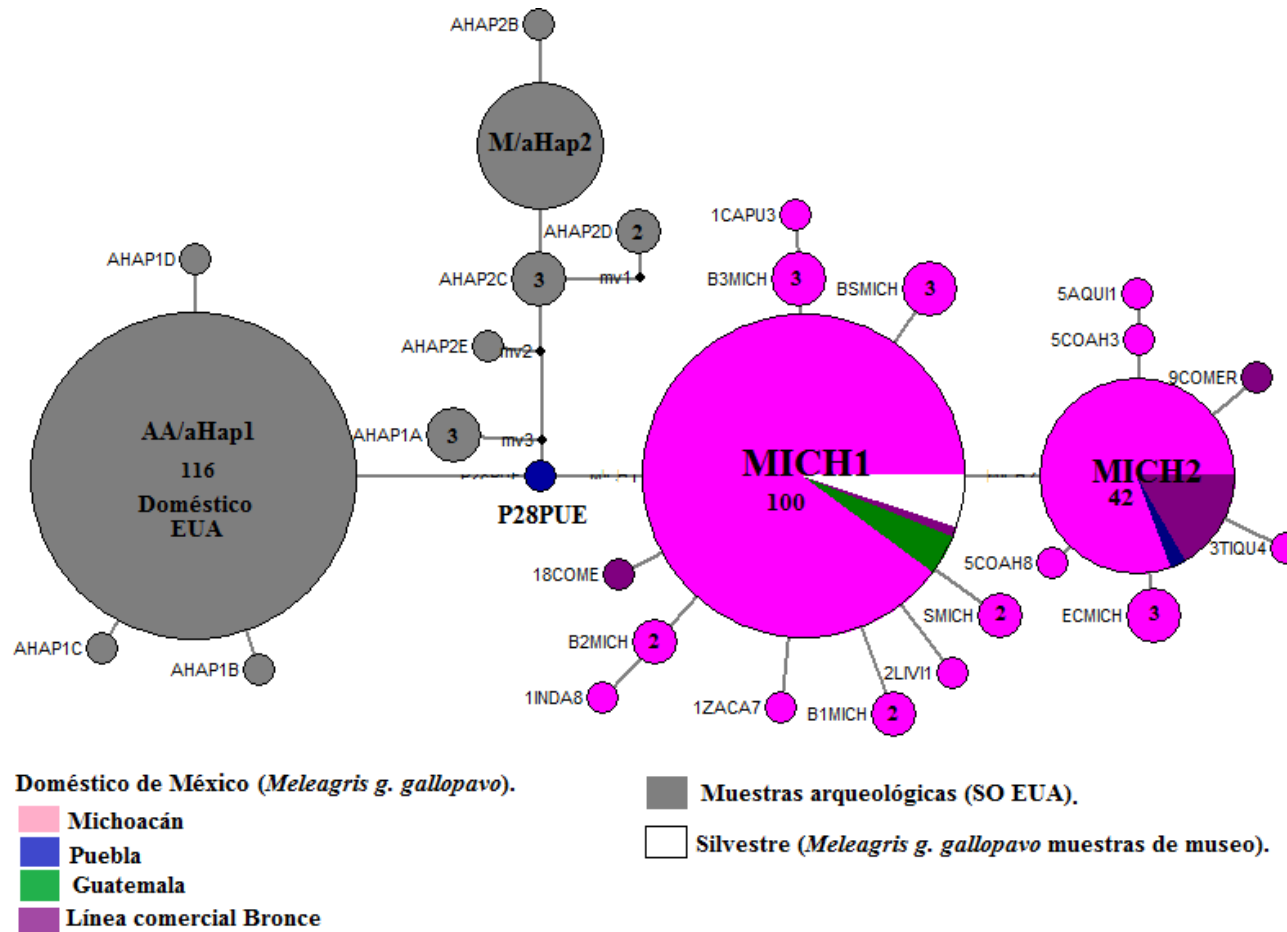


Figura 8. Red de haplotipos de los guajolotes domésticos usando Median-Joining. Relaciones de los 19 haplotipos de guajolote doméstico de traspatio encontrados en Michoacán, Puebla y Guatemala con los 12 encontrados por Speller *et al.*, 2009 en muestras arqueológicas, y cuatro haplotipos de guajolote comercial Bronce. Cada círculo representa un haplotipo y el número indica los individuos encontrados en cada uno. MICH1 corresponde al haplotipo AD y mHap2 y MICH2 corresponde al FAA23 y mHap1 (Mock *et al.*, 2002; Speller *et al.*, 2009).

SILVESTRE

- M. g. mexicana*
- M. g. intermedia*
- M. g. silvestris*
- M. g. merriami*
- M. g. osceola*

M. g. gallopavo (museo 1903).

DOMÉSTICO

M. g. gallopavo

Línea comercial Bronce

Muestras arqueológicas (SO EUA).

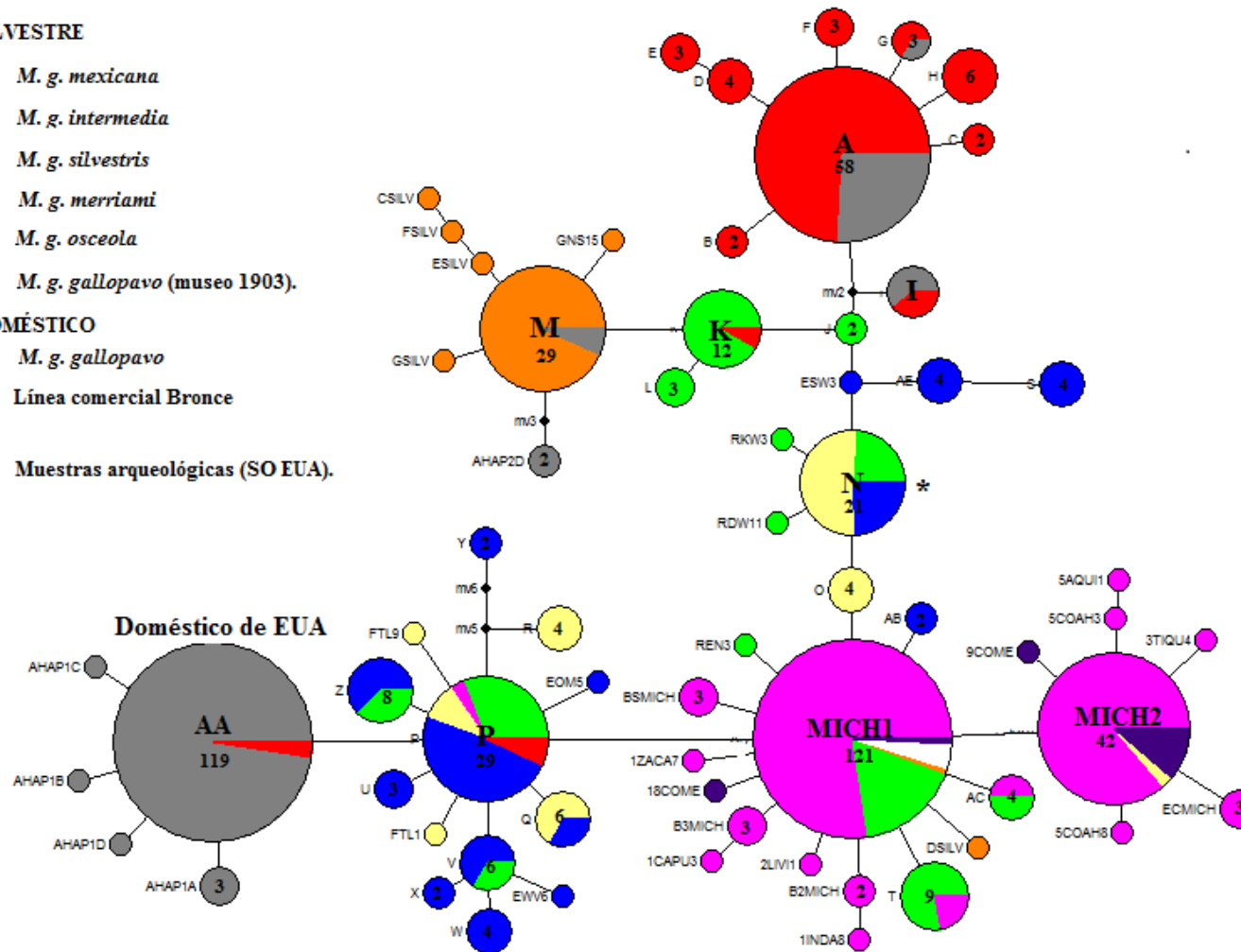


Figura 9. Red de haplotipos de las seis subespecies propuestas para *Meleagris gallopavo* L. usando Median-Joining. Relación de los 42 haplotipos reportados por Mock *et al.*, (2002), los 12 obtenidos por Speller *et al.*, (2009), los siete haplotipos encontrados en este estudio en *Meleagris g. mexicana*, un haplotipo de *Meleagris g. intermedia* y 19 en *Meleagris g. gallopavo*. Cada círculo representa un haplotipo y el número indica los individuos encontrados en cada uno. MICH1 corresponde al haplotipo AD y mHap2 y MICH2 corresponde al FAA23 y mHap1 (Mock *et al.*, 2002; Speller *et al.*, 2009).

IX. DISCUSIONES

Este estudio analizó individuos de guajolote silvestre y doméstico de traspatio utilizando la región control como marcador mitocondrial, ya que es el más utilizado en investigaciones sobre el origen y la filogeografía de animales domésticos como pollo, caballo, conejo, yak, pato, búfalo, cerdo, oveja y cabra (Niu *et al.*, 2002; Jansen *et al.*, 2002; Long *et al.*, 2003; Guo *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2007; Lei *et al.*, 2007; Larson *et al.*, 2007; Cinkulov *et al.*, 2008; Vacca *et al.*, 2010). Se examinó el dominio I de la región control por ser la sección más polimórfica (Mock *et al.*, 2002) y la que presenta un mayor número de secuencias en la base de datos del NCBI para la especie.

Diversidad genética del guajolote mexicano.

La diversidad haplotípica del guajolote doméstico de traspatio $h = 0.576$, es menor con respecto a otra ave doméstica como el pato $h = 0.798$ (Zhang *et al.*, 2007), sin embargo, el muestreo del pato nativo se hizo en cinco localidades de China abarcando toda su distribución, y los valores de diversidad para el guajolote doméstico son aportados por un solo estado, por lo que al ir aumentando las localidades es probable que encontremos más haplotipos, como se observó al considerar los individuos de Michoacán y con solo dos individuos del estado de Puebla, obtuvimos un aumento en la diversidad haplotípica $h = 0.584$ (Cuadro 5).

La historia demográfica de una población se refleja por la combinación de los índices de diversidad haplotípica y nucleotídica, dando cuatro tipos de escenarios (Grant y Bowen, 1998; Avise, 2000), uno de ellos se observa en las poblaciones de guajolote doméstico (*Meleagris g. gallopavo*) las cuales pudieron experimentar un severo cuello de botella (o quizá presión selectiva) en tiempo reciente, o también pudo ocurrir un evento fundador (por uno o pocos linajes maternos) que dieron origen a las poblaciones de guajolote en Michoacán, aunque la prueba de Tajima nos sugiere una expansión poblacional reciente, pero esta no es significativa. Aunque este escenario es común en animales domésticos, al comparar estos índices de diversidad con los de las subespecies silvestres de guajolote, solo en cuatro de ellas se observa un patrón diferente, estas proceden de una población histórica con tamaño efectivo pequeño, donde la diversidad haplotípica alta, indica que estas poblaciones tienen un rápido crecimiento por la retención de mutaciones y la diversidad nucleotídica baja, muestra una coalescencia

reciente, esto quizá como un reflejo de una expansión rápida seguida de un aislamiento en los refugios del Pleistoceno (Mock *et al.*, 2002). Sin embargo, en la subespecie silvestre *Meleagris g. mexicana*, no ocurrió tal patrón. Utilizando la información de este trabajo junto con lo ya reportado (Mock *et al.*, 2002), los índices de diversidad comparados con el resto de las subespecies son muy bajos ($h=0.374$, $\pi=0.00248$), e incluso la diversidad haplotípica es mayor en guajolote doméstico, aunque la diversidad nucleotídica si es mayor en la subespecie silvestre que en la doméstica, por lo que se puede proponer otro escenario, quizá provenga de una población ancestral con un transitorio cuello de botella, ya que se puede eliminar muchos haplotipos sin necesidad de impactar la diversidad nucleotídica severamente, y al mismo tiempo se refleja la divergencia geográfica en poblaciones pequeñas, otros autores mencionan que basados en otro tipo de marcador (microsatélites) la tasa de heterocigoidad y la pérdida del número de alelos no indica tal suceso al menos recientemente (Mock, *et al.*, 2002).

Con lo mencionado en párrafos anteriores, la subespecie *Meleagris g. gallopavo*, no solo sufrió una reducción en su diversidad genética por el proceso de domesticación, si no que probablemente ocurrieron otras variables demográficas, tal como sufrieron los guajolotes silvestres.

Filogenia del guajolote.

En las poblaciones michoacanas de guajolote doméstico de traspatio al igual que otros animales domésticos tal como en patos, ovejas, cabras chinas, entre otros (Zhang *et al.*, 2007; Cinkulov *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009), no se observó un patrón específico de agrupamiento de los haplotipos con respecto a las diferentes áreas ecológicas, así como se encontró con microsatélites (López-Zavala *et al.*, en prensa), esta diferencia puede ser por el tipo de marcador, la tasa de mutación de los microsatélites es mucho más alta que una puntual, por lo que es más sensible para identificar patrones recientes, aunque no son particularmente útiles para inferir eventos evolutivos que ocurrieron en el pasado relativamente distante, su rápida tasa de mutación y su tendencia a incrementar o disminuir en tamaño, influye en que la agruparlos según el tamaño a menudo podría existir homoplasia (Freeland, 2005). Cuando hay estructura en genes nucleares y esta no se observa en mitocondriales, se dice que pudo haber ocurrido un barrido selectivo, el cual se producen cuando un haplotipo nuevo con una ventaja surge rápidamente y reemplaza todos lo demás haplotipos en la población, este removerá todos

los haplotipos previos para eliminar toda evidencia de la estructura de la población (Zink y Barrowclough, 2008).

La parafilia observada en el árbol entre las subespecies *M. g. silvestris*, *M. g. osceola* y *M. g. intermedia*, se espera cuando la separación de las poblaciones es reciente (Mackay y Zink, 2010), existen investigaciones donde se utilizó otro tipo de marcador más fino (AFLP y microsatélites), pero tampoco se encontró diferenciación alguna entre *M. g. silvestris* y *M. g. osceola*, lo que indica que hay un flujo alto dado por la cercanía geográfica, pero en *Meleagris g. intermedia* si hubo una separación, a pesar de colindar geográficamente con *M. g. silvestris* (Mock *et al.*, 2002), aunque con el marcador mitocondrial resultó ser la más parafilética, ya que se observan haplotipos que se comparten con *merriami*, *osceola*, *silvestris* y *gallopavo*. Los haplotipos que geográficamente se encuentran mezclados, sugieren una expansión actual en la distribución o niveles altos de flujo génico reciente (Avice, 1994).

A pesar de no presentar una estructura respecto a su distribución geográfica los haplotipos de las poblaciones de *M. g. gallopavo*, no se encontraron mezclados con los haplotipos de las demás subespecies (con excepción del haplotipo encontrado en Puebla), debido a que estas poblaciones se mantienen semicautivas, quedando aisladas del resto de las poblaciones silvestres, esto demuestra que son poblaciones que han conservado su identidad genética.

De acuerdo a los resultados del análisis de agrupamiento de este estudio los haplotipos más antiguos pertenecen a la subespecie *M. g. mexicana* y con base en microsatélites y AFLPs es la más divergente de las cinco subespecies (Mock, *et al.*, 2002), y adicionalmente se puede observar que hay una subdivisión entre sus haplotipos. Lo anterior concuerda con la propuesta de un escenario histórico donde hubo una separación geográfica de esta subespecie en subpoblaciones, donde *M. g. mexicana* no comparte haplotipos con el resto de las subespecies. Los individuos de *M. g. mexicana* de donde se tomaron las muestras de sangre para este estudio, provienen de una Unidad de Manejo Ambiental en Durango, cuya población originalmente fue trasladada de Yecora, Sonora, norte y centro de la Sierra Madre en Chihuahua, estados donde se distribuyen en la actualidad poblaciones de guajolote silvestre relicto. Estas poblaciones se encontraban ahí desde hace miles de años, de acuerdo al hallazgo de restos fósiles de *Meleagris gallopavo* L. en las localidades de Arizpe y La Brisca, en Sonora, y también en La Laguna de la Media Luna, en San Luís Potosí. Ambos registros

corresponden al Pleistoceno tardío, época geológica donde se extinguió *Meleagris crassipes*, cuyos restos fueron encontrados en la Cueva San Josecito, en Nuevo León, esta especie fue considerablemente más pequeña que *Meleagris gallopavo*, así como también desaparecieron otras especies distribuidas en EUA como *Meleagris richmondi*, *M. leopoldi*, *M. alta* (Cracraft, 1968; Corona, 2002 y 2008), sobreviviendo hasta nuestro días *Meleagris gallopavo* y *M. ocellata*.

Relación entre los haplotipos del estado de Michoacán y otros haplotipos de guajolote doméstico.

La red de haplotipos del guajolote doméstico de traspatio de Michoacán (Fig.7), no confirma el cuello de botella que se describe con los valores de diversidad, la uniformidad que presenta este grupo de haplotipos representados en mayor frecuencia por dos haplotipos es consecuencia del proceso de domesticación y quizá también por otros procesos asociados. Las conexiones entre los haplotipos representan eventos coalescentes, por lo que se puede predecir que el haplotipo MICH1 puede ser el más ancestral, ya que tiene una mayor frecuencia y múltiples conexiones, queda dentro de la red y tiene una amplia distribución (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009), lo anterior se puede respaldar con la información que se encontró en las muestras de museo de guajolote silvestre (*M. g. gallopavo*) colectadas en el año 1903 en Michoacán y Veracruz (Speller *et al.*, 2009), ya que mHap2 es el mismo haplotipo que MICH1. Este mismo haplotipo se encontró en muestras procedentes de Punta de Manabique, Guatemala y en muestras de la bases de datos del NCBI, adquiridas de los productores de guajolote doméstico de la Isla de Vancouver, de Baja California y Canadá, así como de supermercados de Estados Unidos, lo anterior confirma los antecedentes históricos que se tiene con respecto a la domesticación del guajolote en México llevado por los españoles a Europa y a Centro América en el siglo XVI, y por los ingleses y franceses a EUA en el siglo XVII (Crawford, 1992). El haplotipo P28 que mostró una estrecha relación con el grupo de haplotipos encontrados en muestras arqueológicas del suroeste de EUA, fue colectado en el Municipio de Totimehuacán, Puebla, por lo que se debe considerar ampliar el muestreo hacia otros estados del centro, norte y sureste de la República Mexicana, para tener una mejor representación de la distribución histórica del guajolote, así como incluir en el análisis los restos fósiles de guajolote doméstico encontrados en el Valle de México.

Relación entre los haplotipos de guajolote doméstico y silvestre.

La hibridación ocurre cuando los descendientes son producto del entrecruzamiento de poblaciones genéticamente distintas (Futuyma 2005), la hibridación más común es la que ocurre a nivel intraespecífico (Freeland, 2005). La hibridación es un fenómeno muy general en aves, aunque la introgresión no siempre se lleva a cabo, ya que la selección endógena y exógena puede limitar el movimiento de los genes en una zona de hibridación (Mackay y Zink, 2010), sin embargo, entre las subespecies si ocurre este fenómeno biológico, cuando los organismos se encuentran geográficamente cercanos. El intercambio de genes entre taxa es una oportunidad para aumentar la adaptación y/o diversificación (Dowling y Secor, 1997).

Las conexiones entre los haplotipos de las seis subespecies está relacionada con su distribución geográfica (Fig. 1), *silvestris* comparte haplotipos con *intermedia* y *osceola*, por la cercanía geográfica de sus poblaciones, que facilitó el flujo de genes entre los individuos de manera natural en el pasado o por intervención del hombre en la actualidad, estas tres subespecies presentan los valores más altos de diversidad quizá debido a que no quedaron completamente aisladas, lo contrario ocurre con *M. g. mexicana* que no compartió haplotipos y presentó los valores de diversidad más bajos, tal vez por la separación de sus poblaciones con el resto de las subespecies, a excepción de dos haplotipos que se encontraron en los domésticos, sin embargo, por su baja frecuencia sugiere que se introdujeron en la población silvestre por hibridación con guajolotes domésticos de la región. Las poblaciones de *M. g. gallopavo* comparten haplotipos con *M. g. intermedia*, estas dos se encontraron geográficamente cercanas en el pasado, permitiendo el flujo genético entre ellas. La relación encontrada del haplotipo (AB) de *M. g. silvestris* con el haplotipo AD/MICH de guajolote doméstico nos confirma que hubo una hibridación, que se llevó a cabo en el siglo XVII cuando los ingleses y franceses introdujeron a EUA al guajolote doméstico el cual se cruzó con el guajolote silvestre (Crawford, 2002), además del haplotipo P28 encontrado en Puebla que es el mismo que el haplotipo P correspondiente a este guajolote silvestre.

Situación histórica y actual de las poblaciones de guajolote doméstico de traspatio en Michoacán.

Las poblaciones de guajolote doméstico de traspatio de Michoacán descienden básicamente de dos líneas maternas (Fig. 7), por lo tanto, la diferenciación actual en tres grupos genéticos asociados a una distribución geográfica observada con microsatélites (Fig. 2b), es el resultado de la moderada diversidad que tiene el guajolote y su respuesta a la presión ambiental que hay en cada región, ya que el 94% de los sistemas de producción es no tecnificado (López-Zavala *et al.*, 2008a), por lo que las aves están expuestas a los cambios ambientales como cualquier ave silvestre. Las diferencias morfométricas de la población de la región Costa probablemente se deban a un manejo diferente (selección artificial), o aislamiento asociado con la cultura prehispánica asentada en el área, y no a un nivel de aislamiento diferenciado de las otras regiones por un efecto fundador.

Un ave en condiciones normales para lograr mantener una temperatura constante debe equilibrar la producción de calor con las diversas vías de su pérdida (radiación, conducción, convección y enfriamiento por evaporación en el tracto respiratorio), la influencia ambiental sobre el equilibrio térmico del organismo indica que hay una tendencia hacia una masa corporal óptima que se adapta a la temperatura global y a las condiciones de humedad. El tamaño pequeño se asocia con condiciones calurosas y húmedas, y los de mayor tamaño, con condiciones más frescas o secas, por lo que los patrones de la variación geográfica en las características morfológicas de los organismos revelan una variedad de procesos evolutivos (James, 1970). López Zavala y col. (2008b) señalan que las aves de la Faja Volcánica Transmexicana se caracterizan por ser más grandes y pesadas (Envergadura 103.2cm y 4.82 Kg), esto en respuesta a la presión ambiental de la región (Clima Templado) que ejerce sobre la morfología. En la región Costa las aves son pequeñas y ligeras (88.16 cm y 2.93 Kg), por las características de la región (Clima Subtropical), y las poblaciones de la Sierra (Clima Semiseco y Subtropical) también son ligeras, pero son aves grandes, debido a que el tamaño óptimo en un clima caliente y seco es mayor, ya que la pérdida de calor por evaporación se verá facilitada por la diferencia mayor entre la presión de vapor de agua de la superficie de evaporación y la presión de vapor del aire inspirado.

Las regiones Balsas y Bajío forman el primer grupo genético de guajolotes domésticos de traspatio, el manejo en la población del Balsas es menos intensivo y su diversidad es la más alta, la región del Bajío tiene un manejo más intensivo pero su diversidad no se ha visto afectada. La población de la Faja Volcánica Transmexicana forma el segundo grupo genético, su manejo es el más intensivo, sin embargo, tampoco su diversidad se ve afectada. Pero esto no ocurre en las regiones Sierra y Costa que conforman el tercer grupo genético, el manejo intensivo que hay en Sierra es el mismo que en el Bajío, pero en la población de Sierra su diversidad si se ve afectada, el patrón que siguen estas poblaciones es diferente al que se observa en la Costa, esta al igual que Balsas, tiene un manejo menos intensivo, la crianza no está en confinamiento, a pesar de ello, presenta los valores más bajos de diversidad (López-Zavala et al., 2008a). Esto quizá se puede explicar considerando ambos marcadores (los microsátélites ya reportados y los mitocondriales) el número de alelos privados que se detectaron con microsátélites en las poblaciones de cada región fisiográfica, los nuevos alelos en loci microsátélites son producto de procesos de mutación y un alto número de alelos privados en un locus microsátélite en específico puede indicar que viene de sitios en heterocigotos que tienden a mutar con mayor frecuencia que en los sitios de homocigotos. Si se considera que las poblaciones de las regiones Bajío, Faja Volcánica Transmexicana y Sierra fueron las primeras en separarse de la población ancestral domesticada, tuvieron un mayor tiempo en retener mutaciones, de acuerdo a esto, el menor número de alelos privados (2) detectados en la región Costa sugiere una separación reciente (López-Zavala *et al.*, en preparación), o un número menor de hembras fundadoras, la población Costa tiene tres haplotipos que no se comparten, dos son del municipio de Coahuayana (de quince individuos analizados) y uno del municipio de Aquila. El municipio de Coahuayana es de origen nahua, este pueblo indígena estaba sometido por los purépecha a quienes tributaban sal, algodón y productos tropicales (<http://www.e-local.gob.mx>, mayo 2011), que por su lenguaje, costumbres y tradiciones diferentes a las del pueblo purépecha quedaron aislados, por lo que probablemente esto pudo influir en una selección y manejo diferente a los aplicados en las poblaciones del resto de las regiones fisiográficas del estado de Michoacán.

X. CONCLUSIONES

La falta de estructura genética encontrada en los guajolotes domesticados de traspatio en relación con su distribución geográfica y la presencia de dos haplotipos encontrados en mayor frecuencia, que comparten las cinco poblaciones de Michoacán, nos confirma la hipótesis de que los guajolotes domésticos de traspatio del Bajío, Faja Volcánica Transmexicana, Balsas, Sierra y Costa descienden de una misma población históricamente ancestral.

Las diferencias morfométricas observadas entre las poblaciones de las cinco regiones fisiográficas se deben a una selección natural por la presión ambiental ejercida en cada una de tales regiones sobre los guajolotes. En la población de la Costa ocurre además una selección artificial debido al manejo particular por el tipo de cultura asentada en ese lugar.

Las poblaciones silvestres más ancestrales de *Meleagris gallopavo* L., se encuentran en el noroeste de México y probablemente de esta zona se desplazaron los guajolotes hacia el sur de México, EUA y sureste de Canadá.

XI. LITERATURA CITADA

- Alfaro, M. E. y Huelsenbeck, J. P. 2006. Comparative Performance of Bayesian and AIC-Based Measures of Phylogenetic Model Uncertainty. *Systematic Biology* 55 (1): 89-96.
- Avise, J.C. 1994. Molecular markers, Natural History and Evolution. Kluwer Academic Publishers. USA. 511 pp.
- Avise, J. C. 2000. Phylogeography: The History and Formation of Species. Harvard University Press, Cambridge, MA USA. 447 pp.
- Avise, J. C. 2004. Molecular Markers, Natural History, and Evolution. Second Edition. Sinauer Associates Inc. MA USA. 684 pp.
- Bandelt, H. J., Forster, P. y Roehl, A. 1999. Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* 16 (1): 37-48.
- Becerril C.A. Los animales en la cultura prehispánica. En: UNAM editor. Primera Jornada de la Historia de la Medicina Veterinaria y Zootecnia. México 2000; 25-30.
- Brown, W. M., George, Jr. M. y Wilson, A. C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. 1979. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76 (4): 1967-1971.
- Brown, W. M., Prager, E. M., Wang, A. y Wilson, A. C. 1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: Tempo and mode of evolution. *Journal of Molecular Evolution* 18 (4): 225-239.
- Burt, D. W., Morrice, D. R., Sewalem, A., Smith, J., Paton I. R., Smith, E. J., Bently, J. y Hocking, P.M. 2003. Preliminary linkage map of the turkey (*Meleagris gallopavo*) based on microsatellite markers. *Animal Genetics* 34: 399-409.
- Chassin-Noria, O., López-Zavala, R., Cano-Camacho, H., Suárez-Corona, E., Juárez-Caratachea, A. y Zavala-Páramo, M. G. 2005. Diversidad genética entre poblaciones de guajolotes mexicanos utilizando un método de amplificación aleatorio de ADN polimórfico (RAPD). *Técnica Pecuaria en México* 43 (3): 415-424.
- Cinkulov, M., Popovski, Z., Porcu, K., Tanaskovska, B., Hodzic, A., Bytyqi, H., Mehmeti, H., Margeta, V., Djedovic, R., Hoda, A., Trailovic, R., Brka, M., Markovic, B., Vazic, B., Vegara, M., Olsaker, I., y Kantanen J. 2008. Genetic diversity and structure of the West Balkan Pramenka sheep types as revealed by microsatellite and mitochondrial DNA analysis. *Anim. Breed. Genet.* 125: 417-426.

- Corona, E. 2002. The Pleistocene bird record of México. *Acta Zoológica Cracoviensia* 45: 293-306.
- Corona, E. Tesis doctoral. 2008. Las aves en el cenozoico tardío de México. Eduardo Corona Martínez. Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid. Madrid, España.
- Cracraft, J. 1968. Primer registro del pleistoceno del Guajolote *Meleagris gallopavo*. Comunicación Corta. *Cóndor* 70 (3): 274
- Crawford, R. D. 1992. Introduction to Europe and diffusion of domesticated turkey from America. *Arch. Zoo.* 4:307-314.
- Domínguez-Domínguez, O. y Vázquez-Domínguez, E. 2009. Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal Biodiversity and Conservation* 32 (1): 59-70.
- Dowling, T. E. y Secor, C. L. 1997. The role of hybridization and introgression in the diversification of animal. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28: 593-619.
- Fernández-Silva P., J. A. Enríquez and J. Montoya. 2003. Replication and transcription of mammalian mitochondrial DNA. *Experimental Physiology.* 88.1: 41-56.
- FitzSimons, N. Male marine turtles. Gene flow, philopatry and mating systems of green turtle *Chelonia mydas*. Tesis Doctoral. Universidad de Queensland Australia. 1997. 241 pp.
- Freeland, J. R. 2005. Molecular Ecology. John Wiley & Sons, Chichester. England. 388 pp.
- Futuyma, D. J. 2005. Evolution. Suinauer Association Press. USA. 213-214 pag.
- Grant, W. S. y Bowen, B. W. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *The American Genetic Association* 89: 415-426.
- Guan, X., Silva, P., Gyenai, K. B., Xu, J., Geng, T., Tu, Z., Samuels, D. C. y Smith, E. J. 2009. The Mitochondrial Genome Sequence and Molecular Phylogeny of the Turkey, *Meleagris gallopavo*. *Animal Genetics* 40 (2): 134-141.
- Guo, S., Savolainen, P., Su, J., Zhang, Q., Qi, D., Zhou, J., Zhong, Y., Zhao, X., y Liu, J. 2006. Origin of mitochondrial DNA diversity of domestic yaks. *BMC Evolutionary Biology* 6: 73.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98.

- Hardy, M. E., Grady, J. M. y Routman, E. J. 2002. Intraspecific phylogeography of the slender madtom: the complex evolutionary history of the Central Highlands of the United States. *Molecular Ecology* 11 (11): 2393-2403.
- Huelsenbeck, J. P. y Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- James, F. C. 1970. Geographical size variation in birds and its relationship to climate. *Ecology* 51(3): 365-390.
- Jansen, T., Forster, P., Levine, M. A., Oelke, H., Hurles, M., Renfrew, C., Weber, J. y Olek, K. 2002. Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (16):10905-10910.
- Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A. y Stevens, P. F. 1999. Plant Systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts USA. 45-106 pag.
- Larson, G., Albarellad, U., Dobney, K., Rowley-Conwy, P., Schibler, J., Tresset, A., Vigneg, J. D., Edwardsh, C. J., Schlumbaumf, A., Dinui, A., Balaçsescu, A., Dolmank, G., Tagliacozzol, A., Manaseryanm, N., Miraclen, P., Wijngaarden-Bakker, L.V., Massetip, M., Bradley, D. G. y Cooper, A. 2007. Ancient DNA, pig domestication, and the spread of the Neolithic into Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104 (39): 15276-15281.
- Latch, E. K., Smith, E. J. y Rhodes Jr., O. E. 2002. Isolation and characterization of microsatellite loci in wild and domestic turkeys (*Meleagris gallopavo*). *Molecular Ecology Notes* 2: 176-178.
- Lei, C. Z., Zhang, W., Chen, H., Lu, F., Liu, R. Y., Yang, X. Y., Zhang, H. C., Liu, Z. G., Yao, L. B., Lu, Z. F. y Zhao, Z. L. 2007. Independent maternal origin of Chinese swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). *Animal Genetics* 38: 97-102.
- Leopold, S. A. 1990. Fauna silvestre de México: Aves y mamíferos de caza 2^a ed. Ediciones Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables. México, D.F.
- Levin I., Santangelo, L., Cheng, H., Crittendend, L. B. y Dogdson, J. B. 1994. An Autosomal genetic linkage map of the chicken. *Journal Heredity* 85:79-85.
- Librado, P. y Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.

- Liu, Z., Crooijmans, R. P. M. A., van der Poel, J. J. y Groenen, M A M. 1994. Use of chicken microsatellite markers in turkey: a pessimistic view. *Animal Genetics* 27 (3): 191-193.
- Liu, Y. P., Cao, S. X., Chen, S. Y., Yao, Y. G. y Liu, T. Z. 2009. Genetic diversity of Chinese domestic goat based on the mitochondrial DNA sequence variation. *J. Anim. Breed. Genet.* 126: 80-89.
- Long, J.-R., Qiu, X.-P., Zeng, F.-T., Tang, L.-M. y Zhang, Y.-P. 2003. Origin of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in China: evidence from mitochondrial DNA control region sequence analysis. *Animal Genetics* 34: 82-87.
- López-Zavala R., Cano-Camacho H, Chassin-Noria O, Monterrubio-Rico C.T. Oyama-Nakagawa K y Zavala-Páramo M. G. Caracterización genética y productiva del guajolote mexicano. Memorias. Simposio de recursos genéticos para América Latina y del Caribe, 13-16 de noviembre de 2007, México, DF.
- López-Zavala, R., Monterrubio-Rico, C. T., Cano-Camacho, H., Chassin-Noria, O., Aguilera-Reyes, U. y Zavala-Páramo, M. G. 2008a. Caracterización de sistemas de producción (*Meleagris gallopavo gallopavo*) de traspatio en las regiones fisiográficas del estado de Michoacán, México. *Técnica Pecuaria en México* 46 (3): 303-316.
- López-Zavala, R., Cano-Camacho, H., Monterrubio-Rico, C. T., Chassin-Noria, O., Aguilera-Reyes, U. y Zavala-Páramo, M. G. 2008b. Características morfológicas y de producción de guajolotes (*Meleagris gallopavo*) criados en sistema de traspatio en el Estado de Michoacán, México. *Livestock Research for Rural Development* 20 (4) de <http://www.lrrd.org/lrrd20/5/lope20068.htm>
- López-Zavala, R., Chassin-Noria, O., Cano-Camacho, H., Oyama, K. y Zavala-Páramo, M. G. Genetic diversity and population structure of Mexican backyard-domesticated and wild turkeys. *J. Anim. Breed. Genet.* En prensa.
- López-Zavala, R., Cano-Camacho, H., Chassin-Noria, O., Oyama, K., Vázquez-Marrufo, G. y Zavala-Páramo, M. G. en preparación
- Losada, H., Rivera, J., Cortés, J., Castillo, A., González, R.O. y Herrera, J. 2006. Un análisis de sistemas de producción de guajolotes (*Meleagris gallipavo*) en el espacio suburbano de la delegación Xochimilco al sur de la Ciudad de México. *Livestock Research for Rural Development* 18 (4) de <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd18/4/losa18052.htm>

- Mackay, B. D. y Zink, R. M. 2010. The causes of mitochondrial DNA gene tree paraphyly in birds. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54: 647-650.
- Madrigal, S. X. 1997. Ubicación geográfica de la vegetación en Michoacán, México. *Ciencia Nicolaita UMSNH* 15: 65-75.
- Mallia, J. G. 1998. Indigenous domestic turkeys of Oaxaca and Quintana Roo, Mexico. *Animal Genetic Resources Information* 23: 69-78.
- Mock, K. E., Wakeling, B. F., Rhodes, O. E., Greenberg, D. L. y Keim, P. 2001. Verifying the origins of a reintroduced population of Gould's wild turkey. *Journal of Wildlife Management* 65:871-879.
- Mock, K. E., Theimer, T. C., Rhodes Jr., O. E., Greenberg, D. L. y Keim, P. 2002. Genetic variation across the historical range the wild turkey (*Meleagris gallopavo*). *Molecular Ecology* 11: 643-657.
- Mock, K. E., Latch, E. K. y Rhodes, O. E. 2004. Assessing losses of genetic diversity due to translocations: long-term case histories in Merriam's turkey (*Meleagris gallopavo merriami*). *Conservation Genetics* 5: 631-645.
- Nabholz, B., J. F. Mauffrey, E. Bazin, N. Galtier and S. Glemin. 2008. Determination of mitochondrial genetic diversity in mammals *Genetics* 178: 351-361.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist* 106: 283-292.
- Niu, D., Fu, Y., Luo, J., Ruan, H., Yu, X. P., Chen, G. y Zhang, Y. P. 2002. The Origin and Genetic Diversity of Chinese Native Chicken Breeds. *Biochemical Genetics* 40 (5/6): 163-174.
- Reed, K. M., Mendoza, K. M. y Beattie, C. W. 1999. Utility of Chicken-specific microsatellite primers for mapping turkey genome *Animal Biotechnology* 10:137-41.
- Reed, K. M., Chávez, L. D., Garbe, J. R., Da, Y. y Harry, D. E. 2003. Allelic variation and genetic linkage of avian microsatellites in a new turkey population for genetic mapping *Cytogenetic and Genome Research* 120:331-339.
- Ronquist, F. y Huelsenbeck, J. P. 2003. MrBayes version 3.0: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19 (12): 1572-1574.
- Sambrook, J. y Russell, D.W. 2001. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*, Third edition. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York.

- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A. R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. USA 74: 5463-5467.
- Schorger AW. Norman Editors In: *The Wild Turkey: Its History and Domestication*. Oklahoma, USA: University of Oklahoma Press; 1966: 625.
- Scotto E. C. 2006. Análisis filogenético comparativo entre secuencias codificadoras (Cyt b y ATPasa 8) y secuencias no codificadoras (D-loop) del ADN mitocondrial de primates y sus implicancias evolutivas en homínidos. *Horizonte Médico*. 2 (6): 111-129.
- Scott, M. L. y Müller-Using, B. 1992. Aspectos Genéticos de una Población de guajolote silvestre (*Meleagris gallopavo*) al Sureste de Nuevo León, México. Reporte Científico núm. 30. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Simpson, J. 1997. Molecular Markers. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 60: 73-76.
- Speller, C. F., Kemp, B. M., Wyatt, S. D., Monroe, C., Lipe, W. D., Arndt, U. M. y Yang, D. Y. Ancient mitochondrial DNA analysis reveals complexity of indigenous North American turkey domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107 (7): 2807-2812.
- Stangel, P. W., Leberg, P. L. y Smith, J. I. 1992. Systematics and population genetics. In *The Wild Turkey: Biology and Management* Ed Dickinson, J G. pp 18-28.
- Swofford, D. L. 2001. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and Other Methods). Version 4.0b10. Sinauer Associates Inc., Massachusetts USA
- Szalanaski, A. L., Church, K. E., Oates, D. W., Bischof, R. y Powers T. O. 2000. Mitochondrial-DNA variation within and among wild turkey (*Meleagris gallopavo*) subspecies. *Transactions of the Nebraska Academy of Sciences* 26:47-53.
- Tamura, K. y Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526.
- Vázquez-Domínguez, E., Castañeda-Rico, S., Garrido-Garduño, T. y Gutiérrez-García, T. A. Avances metodológicos para el estudio conjunto de la información genética, genealógica y geográfica en análisis evolutivos y de distribución. *Rev. chil. hist. nat.* [online]. 2009, vol.82, n.2, pp. 277-297. ISSN 0716-078X.

- Vacca G.M., Daga, C., Pazzola, M., Carcangiu, V., Dettori, M. L. y Cozzi, M.C. 2010. D-loop sequence mitochondrial DNA variability of Sarda goat and other goat breeds and populations reared in the Mediterranean area. *J. Anim. Breed. Genet.* 127: 352-360.
- Valadez, A. R., Rodríguez, B., García, R. y Gamboa, L. 2001. Los guajolotes y la alimentación prehispánica. Una cotidiana excavación de restos arqueológicos nos dicen como comían los gobernantes de Texcoco. *Ciencia y Desarrollo* 157: 55-63.
- Valadez, R. 2003a. "El guajolote: un mexicano genuino". *¿Cómo ves?* 61 (5): 22-26.
- Valadez, R. 2003b. Domesticación y Zootecnia en el México antiguo. *Imagen Veterinaria* 3 (4): 32-43.
- Zavala, P. G., Cano, C. H., Valdez, A. J. J. y López, M. J. 2002. Marcadores moleculares: revisión y aplicaciones prácticas en animales. Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología-FMVZ-UMSNH Morelia, Michoacán. México. *Ciencia Nicolaita* 32: 99-109.
- Zhang, T. J., Li, H., Chen, K., Chang, H., Tang, Q. y Zhang, J. 2007. Genetic Diversity and Systematic Evolution of Chinese Domestic Ducks along the Yangtze-Huai River. *Biochemical Genetics* 45: 823-837.
- Zink, R. M. y Barrowclough, G. F. 2008. Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. *Molecular Ecology* 17: 2107-2121.
- Anónimo. Enciclopedia de los Municipios México, Michoacán. <http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/michoacan/mpios/16014a.htm>. Consultada en 01 mayo 2011.