

# Diversidad genética y estructura de poblaciones de pavos domésticos mexicanos

## Genetic diversity and population structure of Mexican domesticated turkeys

Rigoberto López-Zavala<sup>a</sup>, Horacio Cano-Camacho<sup>b</sup>, Omar Chassin-Noria<sup>c</sup>, Ken Oyama<sup>d</sup>, Gerardo Vázquez-Marrufó<sup>b</sup>, María Guadalupe Zavala-Páramo<sup>b</sup>

### RESUMEN

En este estudio se analizaron niveles de diversidad y estructura genética de 144 guajolotes domesticados de poblaciones de traspatio de las cinco regiones fisiográficas de Michoacán y 16 guajolotes de dos poblaciones silvestres del centro de México utilizados como grupo externo de referencia, mediante siete loci de microsatélites. En guajolotes domesticados el promedio de heterocigosidad fue moderado ( $0.535 \pm 0.285$ ) comparado con silvestres ( $0.701 \pm 0.068$ ). Los guajolotes domesticados mostraron diferenciación entre poblaciones ( $F_{ST} = 0.122$ ) a través de los loci. Los porcentajes de diferenciación estimados por Análisis de Varianza Molecular fueron bajos entre poblaciones (14 % domesticados y 6 % silvestres) y altos dentro de las poblaciones (86 % domesticados y 94 % silvestres). Los análisis de similitud mostraron la formación de un grupo con guajolotes silvestres y dos grupos basales con domesticados; un grupo basal incluyó tres subgrupos con poblaciones de las regiones Bajío, Faja Volcánica Transversal y Balsas, y un segundo grupo basal incluyó dos subgrupos con poblaciones de las regiones Sierra y Costa. El análisis de estructura genética mostró tres grupos para guajolotes domesticados y uno para silvestres. Una prueba de Mantel mostró aislamiento por patrón de distancia ( $r=0.84$ ,  $P<0.05$ ) entre poblaciones domesticadas. Los grupos genéticos de guajolotes domesticados fueron congruentes con los datos morfométricos previamente obtenidos de la misma población; un grupo correspondió a poblaciones de Bajío y Balsas (morfometría intermedia), el segundo grupo incluyó a la población de Faja Volcánica Transmexicana (grandes y pesados), y el tercer grupo correspondió a poblaciones de Sierra y Costa (ligeros y pequeños).

**PALABRAS CLAVE:** Diversidad genética, Distancia genética, *Meleagris gallopavo*, Microsatélite.

### ABSTRACT

In this study, the diversity level and genetic structure of 144 domesticated backyard turkeys from domesticated populations in five physiographic regions of Michoacán and 16 turkeys from two wild populations in Central México, which were used as a reference outgroup, were analyzed through seven microsatellite loci. The average of the observed heterozygosity within the domesticated turkeys was moderate ( $0.535 \pm 0.285$ ) compared with wild turkeys ( $0.701 \pm 0.068$ ). Across the loci, the domesticated turkeys showed differentiation between the populations ( $F_{ST} = 0.122$ ). The differentiation percentages estimated by Analysis of Molecular Variance were low between the populations (14 % domesticated and 6 % wild) and high within populations (86 % domesticated and 94 % wild). Similarity analyses showed a single cluster of wild turkeys and two basal clusters of domesticated turkeys; one basal cluster included three subgroups with populations from the Bajío, Faja Volcánica Transmexicana and Balsas regions, and a second cluster contained two subgroups with populations from the Sierra and Costa regions. Structure software analyses showed three groups of domesticated turkeys and one group of wild turkeys. A Mantel test showed an isolation by distance pattern ( $r=0.84$ ,  $P<0.05$ ) between the domesticated populations. Genetic clusters for the domesticated turkeys were consistent with previously obtained morphometric data from the same population; one cluster grouped populations from the Bajío and Balsas regions (intermediate morphometry), the population from Faja Volcánica Transmexicana formed a second cluster (big and heavy) and the third cluster corresponded to populations from the Sierra and Costa regions (small and light).

**KEY WORDS:** Genetic diversity, Genetic distance, *Meleagris gallopavo*, Microsatellite.

Recibido el 13 de febrero de 2012. Aceptado el 19 de julio de 2012.

<sup>a</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas. México.

<sup>b</sup> Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Km. 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro, Posta Veterinaria, 58000, Tarimbaro, Morelia, Mich. México. Tel. y Fax: (443) 295 80 29. gzavpar@hotmail.com gzavalap@umich.mx. Correspondencia al último autor.

<sup>c</sup> Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México.

<sup>d</sup> Centro de Investigaciones en Ecosistemas. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Proyecto Apoyado por Fondos Sectoriales CONACYT-SAGARPA 2004. Clave de Registro: SAGARPA-2004-C01-201

## INTRODUCCIÓN

El pavo domesticado (*Meleagris gallopavo gallopavo*) se ha criado en comunidades suburbanas y rurales de México desde su domesticación entre los años 200 y 700 AC, por culturas prehispánicas<sup>(1)</sup>. Estas poblaciones de pavos han sido sujetas a una variedad de presiones de selección; las aves se encuentran en pueblos y zonas suburbanas de México bajo un sistema de producción que se caracteriza por tener pobres prácticas sanitarias y dietas desbalanceadas, factores que se adaptan a diferentes condiciones ecológicas<sup>(2,3)</sup>. Hasta ahora, las variedades o poblaciones de pavos en México no se han caracterizado debido a que no hay registro de sus orígenes. Recientemente, se realizaron estudios que incluyen la caracterización de los sistemas de producción del pavo doméstico en México<sup>(2,4,5,6)</sup>, la importancia del pavo dentro de las actividades económicas de la población suburbana y rural del país<sup>(4,5,6)</sup>, y la caracterización morfométrica<sup>(5,6)</sup> y diversidad genética de algunas poblaciones de pavos<sup>(7)</sup>.

Estudios previos de las poblaciones domesticadas de pavos del estado de Michoacán han mostrado algunas características morfométricas, tales como la presencia de plumajes cafés raros (Buffy) o grises (Slate), que se encuentran registrados en los Estados Unidos de América como poco comunes y en peligro de extinción, y variaciones en el peso corporal y tamaño, lo que sugiere la existencia de diversidad dentro de las poblaciones domesticadas debido a la baja selección en la crianza<sup>(3,6,8)</sup>. El estado de Michoacán tiene un amplio espectro de climas y topografía, en donde se proponen cinco regiones fisiográficas basadas en su clima y vegetación específicos: Bajío, Faja Volcánica Transmexicana, Balsas, Sierra y Costa, y cada una de estas regiones tiene vegetación característica<sup>(3,9)</sup>. Esta diversidad regional parece haber tenido impacto sobre las características morfométricas de las poblaciones de pavo domesticado, las cuales tienen sistemas de producción mayoritariamente tradicionales o carentes de tecnología (94.4 %),

## INTRODUCTION

The domesticated turkey (*Meleagris gallopavo gallopavo*) has been raised in suburban and rural communities throughout México since its domestication between the years 200 and 700 AC by prehispanic cultures<sup>(1)</sup>. These turkey populations have been subjected to a variety of selection pressures; the birds are kept in villages and suburban areas of México under a production system characterized by poor sanitary practices and unbalanced diets, factors that are adaptive to different ecological conditions<sup>(2,3)</sup>. Until now, the varieties or turkey populations in Mexico have not been characterized due to the lack of records of their origins. Recently, studies have been conducted that included the characterization of production systems of the domesticated turkey in México<sup>(2,4,5,6)</sup>, the importance of the turkey within the economic activities of the suburban and rural population of the country<sup>(4,5,6)</sup>, and the morphometric characterization<sup>(5,6)</sup> and genetic diversity of some turkey populations<sup>(7)</sup>.

Previous studies in domesticated turkey populations from Michoacán State, have shown some morphometric traits, such as the presence of rare brown (Buffy) or gray feathers (Slate), which are registered in the United States of America as being critically rare, and in danger of extinction. Body weight and size variations, suggest the existence of diversity within domesticated populations due to low selection in breeding<sup>(3,6,8)</sup>. Michoacán State has a broad spectrum of climate and topography, on which five physiographic regions are proposed based on their specific climate and vegetation: Bajío, Faja Volcánica Transmexicana, Balsas, Sierra and Costa, and each of these regions has characteristic vegetation<sup>(3,9)</sup>. This regional diversity appears to have impacted the morphometric traits of domesticated turkey populations, which have production systems that are mostly not technified or traditional (94.4 %), that use few improved management practices: balanced diets in chicks up to two months old; little or no vaccination plan; and improved varieties are

que utilizan pocas prácticas de manejo: dietas balanceadas en pollos de pavo de hasta dos meses de edad; poco o ningún programa de vacunación; y no utilizan variedades mejoradas. Estos factores indican que el tipo de genética del pavo es nativa y constituye un verdadero fondo genético. En aquellas regiones de clima seco, tropical o subtropical (Balsas, Costa y parte de la Sierra), 70 % de las unidades de producción no están provistas de albergues o corrales y las aves pasan la noche en árboles secos o vivos; el otro 30 % tiene albergues precarios contruidos con tablonos de madera de segunda mano o cartón, con techos de cartón o, en ocasiones, de teja y sin comederos permanentes<sup>(3,6)</sup>. Un estudio genético previo, usando ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD), reveló una mayor diversidad genética en algunas poblaciones de pavo domesticado de Michoacán que en poblaciones del estado de Puebla, sugiriendo que los pavos de Michoacán son descendientes de una población históricamente grande<sup>(7)</sup>. Esta observación inicial debe ser reevaluada por medio del uso de mejores marcadores genéticos para estudiar la estructura de la población de pavos agregando individuos de otras regiones de Michoacán. Las poblaciones de pavos domesticados mexicanos representan un reservorio de variabilidad genética y fenotípica que debe ser explorado; la información obtenida en este sentido será útil para fines de conservación y manejo adecuado de sistemas de producción tradicional. El objetivo del presente estudio fue evaluar la diversidad de cinco poblaciones de pavo domesticado mexicano de cinco regiones fisiográficas del centro de México (Michoacán) usando marcadores microsatélites.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Colecta de muestras*

Se usaron cinco poblaciones de pavo domesticado (*M. g. gallopavo*) originario del centro de México y dos poblaciones silvestres (*M. g. mexicana*) incluidas como grupo externo.

not used. These factors indicate that the genetic type of the turkey is native and constitutes a real genetic fund. In those areas that have a dry, tropical or subtropical climate (Balsas, Coast and part of Sierra regions), 70 % of the production units do not have sheds or corrals, and the birds spend the night in dry or living trees. The other 30 % have precarious sheds built with second-hand wood or cardboard planks, with cardboard roofs or tiles in some instances and without a permanent feeder<sup>(3,6)</sup>. A previous genetic study, using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPDs), revealed a higher genetic diversity in some populations of domesticated turkey in Michoacán State than in populations from Puebla State, suggesting that the turkeys from Michoacán were descendants from a historically large population<sup>(7)</sup>. This initial observation must be reevaluated by the use of better genetic markers to study the population structure of the turkeys and by adding individuals from other regions within Michoacán. Mexican domesticated turkey populations represent a reservoir of genetic and phenotypic variability that must be explored; information gathered in this sense will be useful for conservation issues and proper management of traditional production systems. The objective of the present study was to evaluate the diversity of a set of five domesticated Mexican turkey populations from five physiographic regions of Central Mexico (Michoacán) using microsatellite markers.

## MATERIALS AND METHODS

### *Sample collection*

A set of five domesticated turkey populations (*M. g. gallopavo*) originating from Central Mexico, and two wild populations (*M. g. mexicana*) used as an external group, were included in this study. In total, 144 samples of blood were collected from females and males from the five domesticated populations, that were 10-18 mo old raised in a breeding system that was not technified or traditional and that were from different localities in five physiographic regions of Central Mexico:

Se colectó un total de 144 muestras de sangre de hembras y machos de las cinco poblaciones domesticadas, de 10 a 18 meses de edad, criadas en un sistema de producción no tecnificado o tradicional, y que provenían de diferentes localidades en cinco regiones del centro de México: Bajío (n=31); Faja Volcánica Transmexicana (n=32); Balsas (n=28); Sierra (n=31); y Costa (n=22) (estado de Michoacán) (Figura 1). Se utilizó un muestreo estratificado simple y cualitativo, con las capas constituidas por cada región. Los sitios de colección fueron seleccionados al azar en cada región y 15 a 20 sitios fueron asignados a cada región; las unidades de muestreo fueron casas y localidades en donde los pavos se encontraban en los patios o en lugares cercanos a las casas.

Además, se colectaron siete muestras de sangre de pavos silvestres de poblaciones relicto de Mezquitic y Huejuquilla, Jalisco y Valparaíso, Zacatecas (en lo sucesivo Centro Occidente); y nueve muestras de sangre de pavos silvestres de Canatlán, Durango (Figura 1). Para cada muestra se tomaron 0.2 ml de sangre de la vena braquial y se colocaron en un tubo vial

Bajío (n=31), Faja Volcánica Transmexicana (n=32), Balsas (n=28), Sierra (n=31) and Costa (n=22) (State of Michoacán) (Figure 1). These samples were collected by means of simple qualitative stratified sampling, with the layers constituted by each region. The collection sites were selected at random within each region, and 15 to 20 sites were assigned to each region; the sampling units were the houses and localities where turkeys were observed in the backyards or in places near houses.

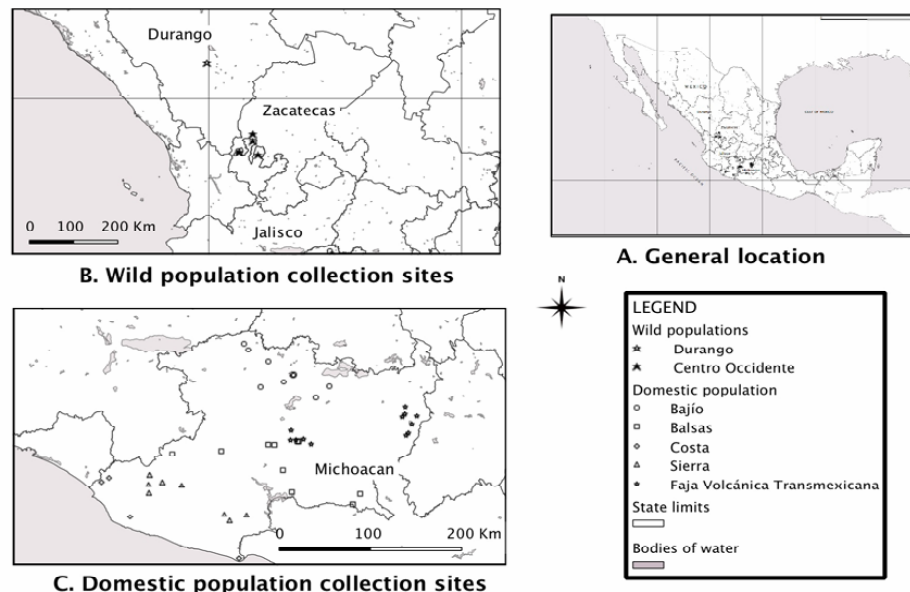
Additionally, blood samples from seven wild turkeys were collected from relict populations from Mezquitic and Huejuquilla, Jalisco and Valparaíso, Zacatecas, (hereafter Centro Occidente); and nine wild turkey blood samples were collected from Canatlán, Durango (Figure 1). For each sample, 0.2 ml blood was extracted from the brachial vein and placed in a vial with 0.5 ml lysis buffer for preservation<sup>(10)</sup>.

*DNA extraction, microsatellite markers and PCR*

DNA was extracted using the phenol-free method described by Fitz-Simmons<sup>(11)</sup>. The PCR

Figura 1. Localidades de muestreo de pavos domesticados y silvestres

Figure 1. Sampling locations for domesticated and wild turkey populations



con 0.5 ml de solución amortiguadora de lisis para preservación<sup>(10)</sup>.

*Extracción de ADN, marcadores de microsátélites y PCR*

Se realizó extracción de ADN mediante el método libre de fenol descrito por Fitz-Simmons<sup>(11)</sup>. Los ensayos de PCR se llevaron a cabo con oligonucleótidos para siete loci de secuencias simples repetidas (SSR), descritos previamente<sup>(12,13,14)</sup> (Cuadro 1). La amplificación se realizó en un volumen total de 25 µl; cada mezcla de reacción contenía 20-30 ng de ADN, 10 pmol de cada iniciador, 1X de amortiguador para PCR sin MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen), 200 µM de cada dNTP, 0.75-1.25 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.3 U Platinum *Taq* ADN polimerasa (Invitrogen) y H<sub>2</sub>O destilada, desionizada, estéril. Las condiciones de la PCR fueron como sigue: desnaturalización a 95 °C durante 5 min seguido por 35 ciclos a 95 °C durante 2 min, 53-58 °C por 2 min y 72 °C durante 2 min, con un periodo de extensión final a 72 °C durante 8-10 min (2700 Applied Biosystems). El análisis de detección se realizó en un AB 3100 *Avant* Genetic Analyzer (Applied Biosystems). El tamaño del producto se determinó en relación al tamaño del marcador molecular interno Genescan-350ROX (Applied Biosystems). El tamaño de los alelos se determinó usando el software Peak Scanner versión 1.0 (Applied Biosystems).

assays were performed with oligonucleotides for seven Simple Sequence Repeat (SSR) loci that have been previously described<sup>(12,13,14)</sup> (Table 1). Amplification was performed in a total volume of 25 µl; each reaction mixture contained 20-30 ng DNA, 10 pmol of each primer, 1X PCR buffer without MgCl<sub>2</sub> (Invitrogen), 200 µM of each dNTP, 0.75-1.25 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.3 U Platinum *Taq* DNA polymerase (Invitrogen) and sterile, distilled and deionized H<sub>2</sub>O. The PCR conditions were as follows: denaturation at 95 °C for 5 min followed by 35 cycles of 95 °C for 2 min, 53-58 °C for 2 min and 72 °C for 2 min, with a final extension period at 72 °C for 8-10 min (2700 Applied Biosystems). The detection analysis was performed in an AB 3100 *Avant* Genetic Analyzer (Applied Biosystems). The product size was determined relative to the molecular size of the internal marker Genescan-350ROX (Applied Biosystems). The allele sizes were established by the Peak Scanner v1.0 software (Applied Biosystems).

*Statistical analyses*

Allelic richness (by the rarefaction method), genetic diversity, differentiation through  $F_{IS}$ ,  $F_{ST}$  and  $F_{IT}$  and the significance of the  $F_{ST}$  values (permuting genotypes 2,500 times across each pair of populations) with sequential Bonferroni correction (to  $\alpha=0.05$ ) were calculated using

Cuadro 1. Loci de microsátélites, temperatura de alineamiento ( $T_A$ ), rango del tamaño de los alelos y número de alelos reportados

Table 1. Microsatellite loci, annealing temperature ( $T_A$ ), allele size range and reported number of alleles

Locus	Primer sequence (5' → 3')	$T_A$ (°C)	Allele size range (bp)	Reported alleles
MNT2*	F CTACGCCCTTAGTATTGTGACR TGCCTAGCTGTAAGCAAGTCTC	55	135-166	4
MNT13*	F TTAGGGGATGCTGAACTGTGR GCGTAATTGGTGCTTTCTCC	56	205-227	5
MNT19*	F GCAGGAGGCTCTGAGCTATGR TTATACGGAAGGCGGTTGA	58	222	1
MNT211*	F TTTTCCCATGACCAAGTGACR TTGCATTGGGAAGGCTTAAC	56	186-212	NR
WT75**	F CCAACTGCAAGATGCTTCTGR CTGCATTACTGTTGCATCATGG	53	278-298	6
WT77-2**	F CAGTGCCGAGGGGTTTTATGTR ATTTGCAAGGAAAAACACTTCC	58	162-172	4
RHT0031***	F CCATGGGTCACCTAATTGGR CTTCTTTCATTCCCTCACACC	58	132-136	2

\* Reed *et al.* (2003); \*\* Latch *et al.* (2002); \*\*\*Burt *et al.* (2003). NR= not reported.

### Análisis estadístico

La riqueza alélica (por el método de rarefacción), diversidad genética, diferenciación por medio de *Fis*, *Fst* y *Fit* y la significancia de los valores de *Fst* (permutando genotipos 2,500 veces a través de cada par de poblaciones) con corrección secuencial de Bonferroni (para  $\alpha=0.05$ ) se calcularon usando el software FSTAT<sup>(15)</sup>. El análisis de población se realizó con el software GeneAIEx versión 6.0<sup>(16)</sup> para estimar la variación genética ( $H_e$  de acuerdo a Nei 1987 EQ 8.1<sup>(17)</sup>), el equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE por sus siglas en inglés) y el análisis de varianza molecular (AMOVA por sus siglas en inglés). El análisis AMOVA se realizó en forma separada en las poblaciones silvestres y domesticadas. La distancia genética se estimó usando el método de Reynolds<sup>(18)</sup>. El análisis de aislamiento por distancia entre las poblaciones domesticadas se realizó mediante la prueba de Mantel, usando el software Arlequin versión 3.5, utilizando la matriz de la distancia genética y la matriz de la distancia geográfica entre individuos<sup>(19)</sup>.

### Análisis de comparación

La similitud entre las poblaciones fue computarizada mediante el uso del software

the FSTAT software<sup>(15)</sup>. The population analysis was performed with the GeneAIEx v6.0 software<sup>(16)</sup> to estimate the genetic variation ( $H_e$  according to Nei 1987 EQ 8.1<sup>(17)</sup>), Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) and Analysis of Molecular Variance (AMOVA). The AMOVA analyses were performed separately in the wild and domesticated populations. The genetic distance was estimated using the Reynolds method<sup>(18)</sup>. The analysis of isolation by distance between domesticated populations was performed with the Mantel test using the Arlequin v3.5 software employing the matrix of the genetic distance and the matrix of the geographic distance between individuals<sup>(19)</sup>.

### Comparison analysis

The similarity between the populations was computed with the software packages Phylip v3.3<sup>(20)</sup> and Treeview v1<sup>(21)</sup>, for phylogenetic tree edition, using the wild turkey samples as an external group. A Neighbor-Joining dendrogram summarizing the genetic relationships among the domesticated and wild turkey populations was constructed using Reynolds genetic distances<sup>(18)</sup>. Additionally, groups were identified using the Bayesian method implemented on the Structure v2.2 software<sup>(22)</sup> with 10,000 burn-in periods and 20,000 iterations.

Cuadro 2. Número de alelos observado, riqueza alélica y diversidad genética por locus

Table 2. Number of alleles observed, allelic richness and genetic diversity by locus

Locus	Observed alleles	Allelic richness*	Genetic diversity
MNT211	16	10.25	0.442
MNT13	15	9.94	0.648
MNT2	13	10.46	0.777
MNT19	4	3.39	0.539
WT75	8	5.07	0.649
WT77	3	2.90	0.341
RHT31	6	4.67	0.525
Average	9.28	6.66	0.560

The value of  $P$  to  $F_{is}$  between the samples was 0.00143.

## RESULTS

### Genetic diversity

A total of 65 different alleles were detected across the five domesticated populations (144 individuals) and two wild populations (16 individuals) over the seven assayed loci, which were polymorphic. The allelic richness and genetic diversity were calculated for each locus (Table 2). Three loci presented a high allelic richness and, although two showed low allelic richness, the average of the seven loci was high (6.66). However, although the genetic diversity of three loci was high, the average of the seven loci was moderate (0.560). Six of the seven loci registered more alleles than the

PHYLIP versión 3.3<sup>(20)</sup> y Treeview versión 1<sup>(21)</sup> para la edición del árbol filogenético, usando las muestras del pavo silvestre como grupo externo. Con las distancias genéticas de Reynolds, se construyó un dendograma mediante el método de Neighbor-Joining que resume las relaciones genéticas entre las poblaciones domesticadas y silvestres<sup>(18)</sup>. Además, los grupos fueron identificados usando el método Bayesiano implementado en el software Structure versión 2.2<sup>(22)</sup> con 10,000 periodos eliminados y 20,000 iteraciones.

## RESULTADOS

### *Diversidad genética*

Un total de 65 alelos diferentes se detectaron de las cinco poblaciones domesticadas (144 individuos) y las dos poblaciones silvestres (16 individuos) para los siete loci estudiados, los cuales fueron polimórficos. Se calculó la riqueza alélica y la diversidad genética para cada locus (Cuadro 2). Tres loci mostraron una alta riqueza alélica y, aunque dos presentaron baja riqueza alélica, el promedio de los siete loci fue alto (6.66). Sin embargo, a pesar de que la diversidad genética de tres loci fue alta, el promedio de los siete loci fue moderado (0.560).

number previously reported<sup>(12,13,14)</sup> (Table 3). The average number of alleles per locus was 9.28, ranging from three to 16 alleles (WT77-2 and MNT211, respectively). The average observed heterozygosity for the loci across the domesticated populations was 0.533 (ranging from 0.433 to 0.613), and the expected heterozygosity was 0.606 (ranging from 0.527 to 0.723). For loci across the wild populations, the average observed heterozygosity was 0.701 (ranging from 0.381 to 1.000), and the expected heterozygosity was 0.663 (ranging from 0.453 to 0.795).

The average inbreeding coefficient ( $F_{IS}$ ) across the loci within the domesticated populations was 0.109, and the wild populations had the lowest  $F_{IS}$  value of -0.600 (Table 3). The genetic differentiation ( $F_{ST}$ ) across the loci of the domesticated populations was 0.122, and the wild population had the lowest  $F_{ST}$  value of 0.060. The average inbreeding coefficient ( $F_{IT}$ ) across the loci for the domesticated populations (0.213) was congruent with a deficit in heterozygous individuals within and between populations (0.533). In contrast, the negative  $F_{IS}$  (-0.600) and  $F_{IT}$  (-0.001) values across the loci in the wild populations were indicators of

Cuadro 3. Polimorfismo de 7 microsatélites a través de las cinco poblaciones de pavos domesticados y las dos de pavos silvestres

Table 3. Polymorphism of 7 microsatellite loci across the five domesticated and the two wild turkey populations

Loci	Allele range (bp)	Ra <sup>1</sup>	Na <sup>2</sup>	EFA <sup>3</sup>	Ho <sup>4</sup>		He <sup>5</sup>		F <sub>IS</sub> <sup>6</sup>		F <sub>ST</sub> <sup>7</sup>		F <sub>IT</sub> <sup>8</sup>	
					D	W	D	W	D	W	D	W	D	W
MNT2	127-172	4	13	7.17	0.433	0.873	0.626	0.725	0.308	-0.204	0.278	0.045	0.501	-0.149
MNT13	203-290	5	15	5.71	0.677	0.381	0.723	0.546	0.163	0.007	0.102	0.138	0.249	0.144
MNT19	232-260	1	4	2.58	0.575	0.746	0.527	0.751	-0.090	-0.438	0.151	0.046	0.075	-0.372
MNT211	155-260	-	16	4.09	0.613	0.651	0.689	0.453	0.111	-0.258	0.073	0.031	0.176	-0.219
WT75	127-290	6	8	2.92	0.577	1.000	0.606	0.795	0.048	0.303	0.085	0.122	0.129	0.388
WT77-2	161-178	4	3	2.08	0.464	0.508	0.485	0.700	0.044	0.274	0.054	0.021	0.095	0.290
RHT0031	129-178	2	6	2.84	0.452	0.746	0.572	0.674	0.117	-0.107	0.112	0.018	0.269	-0.087
Average	-	3.14	9.28	3.91	0.533	0.701	0.606	0.663	0.109	-0.600	0.122	0.060	0.213	-0.001

<sup>1</sup>Number of alleles previously reported, <sup>2</sup>Number of alleles per locus; across population, <sup>3</sup>Effective number of alleles per locus, <sup>4</sup>Observed heterozygosity; average across loci, <sup>5</sup>Expected heterozygosity; average across loci, <sup>6</sup>Inbreeding coefficient, <sup>7</sup>Inbreeding coefficient due to sub-populations differentiation, <sup>8</sup>Inbreeding coefficient among populations, D= across domesticated populations, W= across wild populations.

Seis de los siete loci registraron más alelos que el número previamente reportado<sup>(12,13,14)</sup> (Cuadro 3). El número promedio de alelos por locus fue de 9.28, oscilando entre 3 a 16 alelos (WT77-2 y MNT211, respectivamente). El promedio de la heterocigosidad observada para los loci, a través de las poblaciones domesticadas fue de 0.533 (0.433 a 0.613), y la heterocigosidad esperada fue de 0.606 (0.527 a 0.723). Para los loci a través de las poblaciones silvestres, el promedio de la heterocigosidad observada fue de 0.701 (0.381 a 1.000), y el de la heterocigosidad esperada fue de 0.663 (0.453 a 0.795).

El promedio del coeficiente de endogamia (*Fis*) a través de los loci dentro de las poblaciones domesticadas fue de 0.109 y las poblaciones silvestres -0.600 (Cuadro 3). La diferenciación genética (*Fst*) a través de los loci en poblaciones domesticadas fue de 0.122 y la población silvestre tuvo el valor más bajo, 0.060. El promedio del coeficiente de endogamia (*Fit*) a través de los loci para las poblaciones domesticadas (0.213) concordó con un déficit en individuos heterocigotos dentro y entre las poblaciones (0.533). En contraste, los valores negativos de *Fis* (-0.600) y *Fit* (-0.001) a través

an excess of heterozygous individuals both within and between populations.

An average of 4.56 and 4.42 alleles per locus was observed for the domesticated and wild populations, respectively, ranging from 3.85 in the population from the Costa region to 5.28 in the population from the Balsas region (Table 4). In general, the *Ho* value was lower than the *He* value in the domesticated populations, except in the population from the Balsas region, where the value was higher ( $0.668 \pm 0.130$ ) (Table 3). The average inbreeding coefficient (*F<sub>IS</sub>*) was 0.023 for the five domesticated populations and -0.266 for the two wild populations (Table 4).

#### Hardy-Weinberg equilibrium

Across the loci, the wild population from Centro Occidente did not show loci that deviated from the HWE ( $P < 0.05$ ) (Table 3). In contrast, MNT19 deviated from the HWE in the five domesticated populations, whereas WT75 did not deviate from the HWE in any population. On average, across the domestic populations, 2.71 of the seven loci deviated from the HWE. The populations with a majority of loci that showed HWE deviation were the Faja Volcánica Transmexicana, Bajío

Cuadro 4. Mediciones de polimorfismo de las siete poblaciones de pavos

Table 4. Polymorphism measures for the seven turkey populations

Population	n <sup>1</sup>	TNA <sup>2</sup>	Na <sup>3</sup>	Ho <sup>4</sup>	He <sup>5</sup>	HWE <sup>6</sup>	Pa <sup>7</sup>	F <sub>IS</sub> <sup>8</sup>
Domesticated								
Bajío	31	32	4.57	0.581 ± 0.080	0.632 ± 0.134	3	4	-0.004
Faja Volcánica Transmexicana	32	31	4.42	0.558 ± 0.040	0.577 ± 0.179	4	5	-0.023
Balsas	28	37	5.28	0.668 ± 0.130	0.621 ± 0.128	2	5	-0.198
Sierra	31	33	4.71	0.488 ± 0.030	0.658 ± 0.099	3	7	0.157
Costa	22	27	3.85	0.383 ± 0.080	0.543 ± 0.139	2	2	0.182
Average	28.8	32	4.56	0.535 ± 0.285	0.606 ± 0.115	2.8	4.6	0.023
Wild								
Centro Occidente	7	30	4.28	0.735 ± 0.110	0.673 ± 0.109	0	4	-0.213
Durango	9	32	4.57	0.667 ± 0.050	0.653 ± 0.148	1	8	-0.318
Average	8	31	4.42	0.701 ± 0.068	0.663 ± 0.020	0.5	6	-0.266

<sup>1</sup>Sample size, <sup>2</sup>Total number of alleles, <sup>3</sup>Number of alleles per locus; average across loci, <sup>4</sup>Observed heterozygosity; average across loci, <sup>5</sup>Expected heterozygosity; average across loci, <sup>6</sup>Number of loci deviated from Hardy-Weinberg equilibrium, <sup>7</sup>Number of private alleles, <sup>8</sup>Inbreeding coefficient; average across loci.



de los loci en las poblaciones silvestres fueron indicadores de un exceso de individuos heterocigotos dentro y entre poblaciones.

Se observó un promedio de 4.56 y 4.42 alelos por locus en poblaciones domesticadas y silvestres, respectivamente, en un rango de 3.85 en poblaciones de la región de la Costa a 5.28 en la población de la región del Balsas (Cuadro 4). En general, el valor de  $H_o$  fue menor que el de  $H_e$  en poblaciones domesticadas, con excepción de la población de la región del Balsas, donde el valor fue más alto ( $0.668 \pm 0.130$ ) (Cuadro 3). El promedio del coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) fue de 0.023 para las cinco poblaciones domesticadas y -0.266 para las dos poblaciones silvestres (Cuadro 4).

#### *Equilibrio de Hardy-Weinberg*

A través de los loci, la población silvestre del Centro Occidente de México no mostró loci que se desviaran del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 3). En cambio, MNT19 se desvió de HWE en las cinco poblaciones domesticadas, mientras que WT75 no se desvió en ninguna población. En promedio, a través de las poblaciones domesticadas, 2.71 de los siete loci se desviaron de HWE. Las poblaciones con la mayoría de los loci que mostraron desviación fueron de las regiones de la Faja Volcánica Transmexicana, Bajío y Sierra, mientras que los loci con menor desviación se observaron en las poblaciones del Balsas y Costa, y un locus en la población silvestre de Durango (Cuadro 4).

#### *Alelos privados*

En promedio, entre las 160 aves domesticadas y silvestres, hubo 9.28 alelos por locus a través de los siete loci, dando un total de 65 alelos (Cuadro 3). De estos 65 alelos, se detectaron 41 alelos privados (63 %) distribuidos a través de los siete loci y las siete poblaciones. Los alelos privados dentro de las poblaciones silvestres sólo correspondieron a cuatro de los siete loci y fueron aproximadamente 18.46 % del número total de alelos (Cuadros 3, 4). La cantidad de algunos alelos privados entre las poblaciones domesticadas

and Sierra regions, while minor loci deviations were observed in the populations from the Balsas and Costa regions and one locus in the wild population from Durango (Table 4).

#### *Private alleles*

On average, among the 160 domesticated and wild birds, there were 9.28 alleles per locus across the seven loci, for a total of 65 alleles (Table 3). Of these 65 alleles, 41 private alleles (63 %) distributed across the seven loci and seven populations were detected. The private alleles within the wild population only corresponded to four of the seven loci and were approximately 18.46 % of the total number of alleles (Tables 3,4). The amount of some private alleles between the domesticated populations was particularly high; for example, the number of alleles at the locus MNT211 was approximately 10.76 and 9.23 % of the total number of alleles of all loci in the domesticated and wild populations, respectively (Table 4). The number of private alleles within the domesticated populations was low for the Costa region (approximately 3.07 %) and high for the Sierra region (approximately 10.76 %) (Table 4).

#### *Genetic differentiation*

The paired values of  $F_{ST}$  for the differentiation between the domesticated populations ranged from 0.044 between the populations from the Bajío and Balsas regions, to 0.148 between the populations from the Faja Volcánica Transmexicana and Costa regions, and to 0.06 between the wild populations (Table 5). The paired value of  $F_{ST}$  between the total wild and domesticated populations was 0.167 ( $P < 0.05$ ), and this value between the individual populations ranged from 0.109 to 0.163.

To establish the genetic relationships between populations, we measured their genetic distance<sup>(17)</sup>. The largest genetic distance was observed between the domesticated and wild populations, which ranged from 0.306 to 0.210 (Table 5). A significant genetic distance was

Cuadro 5. Diferenciación genética pareada ( $F_{ST}$ ) (sobre la diagonal), y distancia genética pareada de Reynolds (bajo la diagonal) para las poblaciones de pavo domesticado y silvestre

Table 5. Pairwise genetic differentiation ( $F_{ST}$ ) (above diagonal), and pairwise Reynolds genetic distance (below diagonal) for the domesticated and the wild turkey populations

	Bajío	Faja Volcánica Transmexicana	Balsas	Sierra	Costa	Centro Occidente	Durango
Bajío	-	0.072*	0.044*	0.070*	0.097*	0.117*	0.130*
Faja Volcánica Transmexicana	0.130	-	0.071*	0.088*	0.148*	0.141*	0.150*
Balsas	0.091	0.145	-	0.051*	0.090*	0.121*	0.127*
Sierra	0.141	0.167	0.114	-	0.070*	0.109*	0.114*
Costa	0.193	0.260	0.181	0.158	-	0.163*	0.153*
Centro Occidente	0.230	0.262	0.234	0.206	0.307	-	0.060
Durango	0.243	0.264	0.231	0.210	0.295	0.128	-

\* $P < 0.05$

Cuadro 6. Número efectivo de migrantes para poblaciones de pavo domesticado y silvestre

Table 6. Effective number of migrants for the domesticated and the wild turkey populations

	Bajío	Faja Volcánica Transmexicana	Balsas	Sierra	Costa	Centro Occidente	Durango
Bajío	-	0.072*	0.044*	0.070*	0.097*	0.117*	0.130*
Bajío	-						
Faja Volcánica Transmexicana	3.240	-					
Balsas	5.493	3.283	-				
Sierra	3.333	2.602	4.631	-			
Costa	2.337	1.434	2.533	2.970	-		
Centro Occidente	1.884	1.528	1.470	2.038	1.285	-	
Durango	1.668	1.416	1.340	1.951	1.381	3.980	-

fue especialmente alta; por ejemplo, el número de alelos en el locus MNT211 fue de aproximadamente 10.76 y 9.23 % del número total de alelos de todos los loci en las poblaciones domesticadas y silvestres, respectivamente (Cuadro 4). El número de alelos privados dentro de las poblaciones domesticadas fue bajo para la región de la Costa (aproximadamente 3.07 %) y alto para la región de la Sierra (aproximadamente 10.76 %).

#### Diferenciación genética

Los valores pareados de  $F_{ST}$  para la diferenciación entre las poblaciones domesticadas tuvieron un

found between the domesticated populations from the Faja Volcánica Transmexicana and Costa regions (0.260), whereas populations from the Bajío and Balsas regions were less distant (0.091) (Table 5 and Figure 1). The paired values of  $F_{ST}$  between the Bajío and Balsas regions (0.044) and between the Faja Volcánica Transmexicana and Costa regions (0.06) (Table 5) were congruent with their effective number of migrants (5.493 and 1.434, respectively) (Table 6).

The AMOVA produced values of distribution of genetic diversity of 14 and 86 % between and within the domesticated populations, respectively,

rango de 0.044 entre las poblaciones del Bajío y Balsas, a 0.148 entre las poblaciones de las regiones de la Faja Volcánica Transmexicana y la Costa, y a 0.06 entre las poblaciones silvestres (Cuadro 5). El valor pareado de *Fst* entre el total de las poblaciones domesticadas y silvestres fue de 0.167 ( $P < 0.05$ ) y este valor entre poblaciones individuales tuvo un rango de 0.109 a 0.163.

Para establecer las relaciones genéticas entre poblaciones, se midió la distancia genética<sup>(17)</sup>. La mayor distancia genética se observó entre las poblaciones domesticadas y silvestres, con un rango de 0.306 a 0.210 (Cuadro 5). Se encontró una distancia genética significativa entre las poblaciones domesticadas de las regiones de la Faja Volcánica Transmexicana y de la Costa (0.260), mientras que las poblaciones del Bajío y Balsas fueron menos distantes (0.091) (Cuadro 5 y Figura 1). Los valores pareados de *Fst* entre las regiones del Bajío y Balsas (0.044) y entre la Faja Volcánica Transmexicana y la Costa (0.06) concordaron con su número efectivo de migrantes (5.493 y 1.434, respectivamente) (Cuadro 6).

El AMOVA produjo valores de distribución de diversidad genética de 14 y 86 % entre y dentro

Cuadro 7. Resumen AMOVA para las poblaciones de pavo domesticado y silvestre

Table 7. Summary AMOVA for domesticated and wild turkey populations

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation
<b>Domesticated:</b>				
Among populations	4	87.971	0.346	14
Within populations	283	614.689	2.172	86
Total	287	702.660	2.518	100
<b>Wild:</b>				
Among populations	1	4.802	0.148	6
Within populations	30	74.167	2.472	94
Total	31	78.969	2.620	100

Domesticated  $F_{ST} = 0.137$ ,  $P = 0.01$ ; Wild  $F_{ST} = 0.056$ ,  $P = 0.01$ .

and of 6 and 94 % between and within the wild populations, respectively (Table 7).

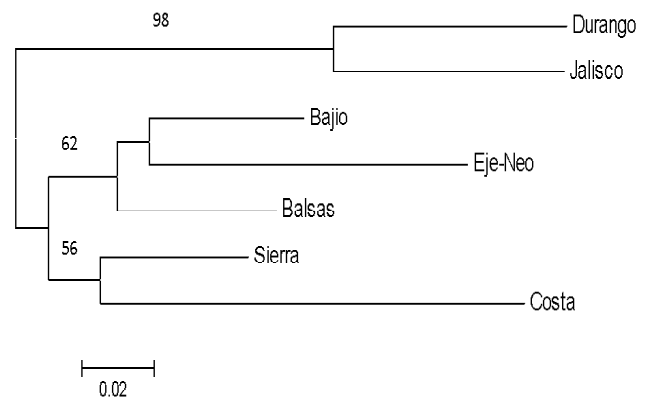
The Neighbor-Joining dendrogram for the seven populations analyzed showed two main clusters: one group that included the domesticated populations and a second group that included the wild populations (Figure 2). In addition, the domesticated turkey populations were further grouped into two basal clusters: one included the Balsas populations as a basal of two sub-clusters with the Bajío and Faja Volcánica Transmexicana populations, and a second cluster included the two subgroups with the populations from the Sierra and Costa regions.

*Population structure*

The analysis of the seven populations of turkeys showed four genetic groups based on the strategy described by Pritchard *et al*<sup>(22)</sup> without an *a priori* assignation of originating population,

Figura 2. Dendrograma Neighbor-Joining que resume la relación genética entre pavos domesticados y silvestres utilizando las distancias genéticas de Reynolds basadas en siete loci microsatélites

Figure 2. Neighbor-Joining dendrogram summarizing genetic relationships among domesticated and wild turkey populations using Reynolds genetic distances based on seven microsatellite loci



The numbers on the nodes indicate the percentage bootstrap values generated from 1000 replications. FVT, Faja Volcánica Transmexicana; CO, Centro Occidente.

de las poblaciones domesticadas, respectivamente, y de 6 y 94 % entre y dentro de las poblaciones silvestres, respectivamente (Cuadro 7).

El dendograma Neighbor-Joining para las siete poblaciones analizadas mostró dos agrupamientos principales: un grupo que incluyó a las poblaciones domesticadas y un segundo grupo que incluyó a las poblaciones silvestres (Figura 2). Adicionalmente, las poblaciones de pavos domesticados fueron posteriormente agrupadas en dos subgrupos basales: uno incluyó a las poblaciones de la región del Balsas como basal de dos subgrupos con las poblaciones del Bajío y la Faja Volcánica Transmexicana, y un segundo agrupamiento que incluyó los dos subgrupos con las poblaciones de las regiones de la Sierra y Costa.

#### *Estructura de la población*

El análisis de las siete poblaciones de pavos mostró cuatro grupos genéticos basados en la estrategia descrita por Pritchard *et al.*<sup>(22)</sup> sin una asignación *a priori* para una población originaria, por medio de un valor modal de DK, una cantidad basada en la tasa de cambio de segundo orden en relación a K de la función de verosimilitud ( $\Delta K=4$ )<sup>(23)</sup>. Tres de estos grupos correspondieron a poblaciones domesticadas y tuvieron bajos niveles de solapamiento entre ellos, mientras que el cuarto grupo incluyó a las poblaciones silvestres sin solapamiento con las poblaciones domesticadas (no mostrado). En el caso de las poblaciones domesticadas, un agrupamiento incluyó a las poblaciones de las regiones del Bajío y Balsas, un segundo agrupamiento incluyó a las poblaciones de la Faja Volcánica Transmexicana, y un tercer agrupamiento correspondió a las poblaciones de las regiones de la Sierra y Costa. De acuerdo al resultado de la prueba de Mantel, en el cual existe una correlación positiva si  $0 < r < 1$ , el índice de correlación obtenido,  $r=0.84$  ( $P < 0.05$ ), fue positivo, y por lo tanto las poblaciones domesticadas mostraron un aislamiento por patrón de distancia.

by the modal value of DK, a quantity based on the second-order rate of change with respect to K of the likelihood function ( $\Delta K=4$ )<sup>(23)</sup>. Three of these groups corresponded to the domesticated populations and had low levels of overlap between them, while the fourth group included the wild populations without overlap with the domesticated populations (not shown). In the case of the domesticated populations, one cluster grouped the populations from the Bajío and Balsas regions, a second cluster included the populations from Faja Volcánica Transmexicana, and a third cluster corresponded to the populations from the Sierra and Costa regions. According to the Mantel test result, in which a positive correlation exists if  $0 < r < 1$ , the obtained correlation index,  $r=0.84$  ( $P < 0.05$ ), was positive, and therefore the domesticated populations showed an isolation by distance pattern.

## DISCUSSION

### *Genetic diversity*

As a group, the domesticated populations showed a high level of diversity. The allelic richness of the turkey was high (6.66) compared with Chinese duck breeds (ranging from 3.45 to 4.31)<sup>(24)</sup>. Although the genetic diversity by locus was not high (0.560), the heterozygosity appeared to be higher on average in the five domesticated populations of native turkeys studied here ( $0.535 \pm 0.285$  in 144 individuals) than the heterozygosity in the five varieties of domesticated turkeys from the USA (0.09 in 94 individuals) previously reported<sup>(25)</sup>. Our heterozygosity values also appeared high compared with the reported values in chickens; 0.499 in 37 individuals of 37 breeds<sup>(26)</sup> and 0.460 in 1,970 individuals<sup>(27)</sup>. Additionally, the level of heterozygosity was similar to the level observed in populations of native chickens in Turkey (ranging from  $0.380 \pm 0.065$  to  $0.508 \pm 0.037$ )<sup>(28)</sup>, native chickens in Korea (0.630)<sup>(29)</sup>, native (0.523 to 0.273) and commercial Japanese chickens (0.471 to

## DISCUSIÓN

### *Diversidad genética*

Como grupo, las poblaciones domesticadas mostraron un alto nivel de diversidad. La riqueza alélica del pavo fue alta (6.66) en comparación con las razas de patos de China (con un rango de 3.45 a 4.31)<sup>(24)</sup>. Aunque la diversidad genética por locus no fue alta (0.560), la heterocigosidad pareció ser más alta en promedio en las cinco poblaciones domesticadas de pavos nativos estudiados en el presente trabajo ( $0.535 \pm 0.285$  en 144 individuos), que la heterocigosidad previamente reportada en las cinco variedades de pavos domesticados de Estados Unidos de América (0.09 en 94 individuos)<sup>(25)</sup>. Los valores de heterocigosidad de este estudio también parecen altos en comparación con los valores reportados en pollos; 0.499 en 37 individuos de 37 razas<sup>(26)</sup> y 0.460 en 1,970 individuos<sup>(27)</sup>. Adicionalmente, el nivel de heterocigosidad fue similar al nivel observado en poblaciones de pollos nativos en Turquía (con un rango de  $0.380 \pm 0.065$  a  $0.508 \pm 0.037$ )<sup>(28)</sup>, pollos nativos de Corea (0.630)<sup>(29)</sup>, pollos japoneses nativos y comerciales (0.471 a 0.472)<sup>(30)</sup> y poblaciones de pollos de bosque y sabana de Ghana (0.568)<sup>(31)</sup>.

Los valores de *F<sub>IS</sub>* a través de los loci de las poblaciones domesticadas y silvestres mostraron las diferencias esperadas, las cuales fueron mayores para pavos domesticados y menores para pavos silvestres. Los valores de *F<sub>ST</sub>* sugirieron flujo genético moderado en poblaciones domesticadas y silvestres. Los valores de *F<sub>ST</sub>* a través de los loci indicaron que aproximadamente el 12 y 6 % de la variación genética total en pavos domesticados y silvestres, respectivamente, fue explicada por las diferencias en las poblaciones, y 88 y 94 % correspondieron a diferencias dentro de las poblaciones, respectivamente.

En general, los valores de *F<sub>IS</sub>* de las poblaciones domesticadas y silvestres fueron consistentes con los valores correspondientes de heteroci-

0.472)<sup>(30)</sup>, and the forest and savannah chicken populations of Ghana (0.568)<sup>(31)</sup>.

The *F<sub>IS</sub>* values across the loci of domesticated and wild populations showed the expected differences, which were larger for domesticated turkeys and smaller for wild turkeys. The *F<sub>ST</sub>* values suggested moderate genetic flow in both wild and domesticated populations. The *F<sub>ST</sub>* values across the loci indicated that approximately 12 and 6 % of the total genetic variation in domesticated and wild turkeys, respectively, was explained by population differences, and 88 and 94 % corresponded to differences within the populations, respectively.

In general, the *F<sub>IS</sub>* values of the domesticated and wild populations were consistent with the corresponding observed heterozygosity values. The mean value of *F<sub>IS</sub>*=0.109 in the domesticated populations was smaller than the value observed in domesticated native chicken populations from Turkey (*F<sub>IS</sub>*= $0.301 \pm 0.05$ )<sup>(28)</sup> and was larger than the value in domesticated chicken breeds (0.09)<sup>(26)</sup> (-0.004 to 0.089)<sup>(27)</sup>, suggesting that the studied domesticated populations have a larger heterozygote deficiency.

### *Hardy-Weinberg equilibrium*

Deviations from the HWE are expected if individual populations are structured into sub-populations that are isolated from each other or if inbreeding has occurred in the populations as a whole. The high level of HWE deviation found in the domesticated populations studied and the not technified or traditional breeding system<sup>(3,6)</sup> indicate a structure in the sub-populations. This level of HWE deviation was also congruent with the average inbreeding coefficient (*F<sub>IS</sub>*) and heterozygous deficiency due to sub-population differentiation (*F<sub>ST</sub>*). Nevertheless, the populations with the smallest number of loci showing HWE deviation were from the Balsas and Costa regions. The system of breeding traditional has contributed to the creation of sub-populations; nevertheless, these

gositad observados. El valor medio de  $F_{IS}=0.109$  en poblaciones domesticadas fue menor que el valor observado en poblaciones de pollos nativos domesticados de Turquía ( $F_{IS}=0.301 \pm 0.05$ )<sup>(28)</sup> y fue mayor que el valor en razas de pollos domesticados ( $0.09$ )<sup>(26)</sup> ( $-0.004$  a  $0.089$ )<sup>(27)</sup>, sugiriendo que las poblaciones domesticadas estudiadas tienen mayor deficiencia de heterocigotos.

### *Equilibrio Hardy-Weinberg*

Se esperan desviaciones de HWE si las poblaciones individuales están estructuradas en subpoblaciones que están aisladas una de la otra, o si la endogamia ha ocurrido en las poblaciones en general. El alto nivel de desviación de HWE encontrado en las poblaciones domesticadas estudiadas y el sistema de reproducción tradicional o no tecnificado<sup>(3,6)</sup>, indican una estructura en subpoblaciones. Este nivel de desviación de HWE también concordó con el promedio del coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ) y deficiencia de heterocigotidad debido a diferenciación en subpoblaciones ( $F_{ST}$ ). Sin embargo, las poblaciones con el menor número de loci mostrando desviación de HWE fueron de las regiones del Balsas y Costa. El sistema de producción tradicional ha contribuido a la creación de subpoblaciones; sin embargo, estas subpoblaciones muestran diferentes niveles de endogamia, indicando una diferencia en la cantidad de tiempo desde la separación a partir de una gran población original.

### *Alelos privados*

Debido a que el flujo de genes entre poblaciones puede ser estimado por la abundancia de alelos privados, las poblaciones domesticadas de las regiones de la Sierra, Balsas y Faja Volcánica Transmexicana, que tuvieron el mayor número de alelos privados (siete, cinco y cinco, respectivamente), pudieron haber sido las primeras en separarse de las otras poblaciones<sup>(27,32)</sup>. Las poblaciones domesticadas de la región de la Costa mostraron sólo dos alelos privados, sugiriendo una separación reciente. Los nuevos

sub-poblaciones show different inbreeding levels, indicating a difference in the amount of time since the split from an original large population.

### *Private alleles*

Because gene flow between populations can be estimated through the abundance of private alleles, the domesticated populations from the Sierra, Balsas and Faja Volcánica Transmexicana regions, which had the largest number of private alleles (seven, five and five, respectively), could have been the first to split from the other populations<sup>(27,32)</sup>. The domesticated populations from the Costa region showed only two private alleles, suggesting a recent split. The new alleles in microsatellite loci are the product of mutation processes, and the high number of private alleles in the specific microsatellite loci might indicate that they are situated on a highly mutagenic genomic region or come from heterozygous sites, which tend to mutate more frequently than homozygous sites<sup>(33)</sup>. The two wild populations showed a high number of private alleles (four and eight), of which six corresponded to one locus. The remaining six private alleles were located in three loci, which could be related with the highest observed heterozygosity level and geographic distance of wild populations.

### *Genetic differentiation*

Despite the heterozygote deficiency observed within the ( $F_{IS}$ ) domesticated populations, the  $F_{ST}$  value ( $0.122$ ) and the AMOVA results ( $14\%$ ) indicate a moderate population divergence. This evidence supports the hypothesis of the origin of these turkeys in historically large populations<sup>(7)</sup>.

In the sampled wild populations, the  $F_{IS}$  values indicated high heterozygosity both within and between populations, while an  $F_{ST}$  value of  $0.060$  and an AMOVA of  $6\%$  suggested little population differentiation and more variation within populations. The  $F_{IS}$  values calculated for the domesticated and wild populations showed differences of deficiency of

alelos en los loci microsatélites son el producto de procesos de mutación, y el gran número de alelos privados en loci microsatélites específicos puede indicar que están situados en una región genómica altamente mutagénica o que provienen de sitios heterocigotos, los cuales tienden a mutar más frecuentemente que los sitios homocigotos<sup>(33)</sup>. Las dos poblaciones silvestres mostraron un gran número de alelos privados (cuatro y ocho), de los cuales seis correspondieron a un locus. El resto de los seis alelos privados se localizaron en tres loci, lo cual puede estar relacionado con el alto nivel de heterocigosidad que se observó y la distancia geográfica de las poblaciones silvestres.

#### *Diferenciación genética*

A pesar de la deficiencia de heterocigotos observada dentro (*Fis*) de las poblaciones domesticadas, el valor de *Fst* (0.122) y los resultados de AMOVA (14 %) indicaron una divergencia moderada de la población. Esta evidencia apoya la hipótesis del origen de estos pavos en poblaciones históricamente grandes<sup>(7)</sup>.

En las poblaciones silvestres muestreadas, los valores de *Fis* indicaron alta heterocigosidad dentro y entre poblaciones, mientras que el valor de *Fst* de 0.060 y un AMOVA de 6 %, sugirieron poca diferenciación de la población y más variación dentro de las poblaciones. Los valores de *Fis* calculados para las poblaciones domesticadas y silvestres mostraron diferencias de deficiencia de heterocigotos entre los pavos domesticados de cada región fisiográfica y los pavos silvestres de diferentes ubicaciones geográficas, indicando una diferente separación en subpoblaciones.

La distancia genética (con un rango de 0.307 a 0.210) entre las poblaciones domesticadas y silvestres se estimó ser moderada, pero refleja el hecho de que estas poblaciones están genéticamente aisladas entre sí. El nivel de aislamiento genético entre las poblaciones domesticadas de las regiones de la Faja Volcánica Transmexicana y de la Costa (0.260)

heterocigotos between the domesticated turkeys of each physiographic region and the wild turkeys of different geographic locations, indicating a different sub-population split.

The genetic distance (ranging of 0.307 to 0.210) between the domesticated and wild populations was estimated to be moderate, but it reflects the fact that these populations are genetically isolated from each other. The level of genetic isolation between the domesticated populations from the Faja Volcánica Transmexicana and Costa regions (0.260) was congruent with its geographic distribution. The low genetic distance between the populations from the Bajío and Balsas regions (0.091) reflect the genetic flow among them.

As expected, similarity analysis clearly clustered the domesticated and wild populations of turkey as different groups. Furthermore, the domesticated populations were segregated into two basal groups and sub-groups that correlated with the geographic distribution of the physiographic regions (correlation result of Mantel test,  $r=0.84$ ,  $P<0.05$ ). Populations from the Faja Volcánica Transmexicana and Costa regions, with little exchange of individuals between regions ( $F_{ST}=0.044$  and  $N_m=1.434$ ), and from the Bajío and Balsas regions, with significant exchange of individuals between regions ( $F_{ST}=0.044$  and  $N_m=5.493$ ), correlated with the geographic distance between them.

The inclusion of wild populations in the present work showed the difference of genetic diversity (AMOVA results) and its genetic distance with domesticated populations.

#### *Population structure*

The analysis of the genetic structure of domesticated populations suggested the existence of three genetically distinct populations. These results were congruent with the similarity analysis results, where segregation into two basal clusters was observed, and suggested the separation of the Faja Volcánica Transmexicana

concordó con la distribución geográfica. La baja distancia genética entre las poblaciones de las regiones del Bajío y Balsas (0.091) reflejan el flujo genético entre éstas.

Como se esperaba, el análisis de similitud claramente agrupó las poblaciones domesticadas y silvestres de pavos como grupos diferentes. Aún más, las poblaciones domesticadas se segregaron en dos grupos basales y subgrupos que correlacionaron con la distribución geográfica de las regiones fisiográficas (resultado de la correlación de la prueba de Mantel,  $r=0.84$ ,  $P<0.05$ ). Las poblaciones de las regiones de la Faja Volcánica Transmexicana y de la Costa, con poco intercambio de individuos entre regiones ( $F_{st}=0.044$  y  $N_m=1,434$ ), y de las regiones del Bajío y Balsas, con importante intercambio de individuos entre regiones ( $F_{st}=0.044$  y  $N_m=5.493$ ), correlacionaron con la distancia geográfica entre ellas.

La inclusión de poblaciones silvestres en el presente estudio mostró la diferencia de diversidad genética (resultados de AMOVA) y su distancia genética con poblaciones domesticadas.

#### *Estructura de la población*

El análisis de la estructura genética de las poblaciones domesticadas sugirió la existencia de tres poblaciones genéticamente distintas. Estos resultados concordaron con los resultados de similitud, donde se observó la segregación en dos grupos basales, y sugirió la separación de las poblaciones de la Faja Volcánica Transmexicana como un subgrupo genético. Los resultados también concordaron con la distribución geográfica de las poblaciones en las regiones fisiográficas (resultados de la correlación de la prueba de Mantel,  $r=0.84$ ,  $P<0.05$ ) y con los datos morfométricos anteriormente recopilados en las mismas regiones. El estudio morfométrico reveló pesos corporales más altos y envergadura más amplia en las poblaciones de la región de la Faja Volcánica Transmexicana (el peso promedio en

populations as a genetic subgroup. The results were also congruent with the geographic distribution of populations on the physiographic regions (correlation results of Mantel test,  $r=0.84$ ,  $P<0.05$ ) and with the morphometric data previously gathered in the same regions. The morphometric study revealed higher body weights and wingspans in populations from the Faja Volcánica Transmexicana region (in males there was an average weight of 9.09 kg and wingspan of 113.75 cm); intermediate weights and wingspans in the Bajío, Balsas and Sierra regions (in males, an average weight of 7.86, 7.40 and 6.90 kg and wingspan of 113.50, 110.33 and 95.35 cm, respectively) and lower weights and wingspans in the Costa region (in males, an average weight of 7.10 kg and wingspan of 93.14 cm)<sup>(3)</sup>.

#### **CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS**

The study of domesticated turkey populations from the five different physiographic regions of the Michoacán State revealed moderate genetic diversity within the populations, with the exception of those from the Costa region. The populations from the Bajío, Faja Volcánica Transmexicana and Sierra regions could have been the first to split from the other populations, and the population from the Costa region could have come from a recent split. The domesticated populations showed a genetic structure for three genetically distinct groups that correlated with their geographic distribution, which were congruent with the populations' morphometric differences in weight and wingspan.

#### **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors thank the financial support provided by the Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT (project 2004-C01-201 to MGZP), CIC-UMSNH (project 14.6 to MGZP) and PROMEP-UAT (scholarship granted to RLZ).

*End of english version*

---



machos fue de 9.09 kg y envergadura de 113.75 cm), pesos corporales y envergadura intermedios en las regiones del Bajío, Balsas y Sierra (el peso promedio en machos fue de 7.86, 7.40 y 6.90 kg y envergadura de 113.50, 110.33 y 95.35 cm, respectivamente) y pesos corporales y envergadura menores en la región de la Costa ( el peso promedio de los machos fue de 7.10 kg y envergadura de 93.14 cm)<sup>(3)</sup>.

## CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

El estudio de las poblaciones de pavos domesticados de cinco diferentes regiones fisiográficas del estado de Michoacán revela diversidad genética moderada dentro de las poblaciones, a excepción de la de la región de la Costa. Las poblaciones de las regiones del Bajío, Faja Volcánica Transmexicana y Sierra pudieron haber sido las primeras en separarse de otras poblaciones, y la población de la región de la Costa pudo haber provenido de una separación reciente. Las poblaciones domesticadas mostraron una estructura genética para tres grupos genéticamente diferentes que correlacionaron con su distribución geográfica, concordando con las diferencias morfométricas de las poblaciones en peso corporal y envergadura.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento otorgado por el Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT (proyecto 2004-C01-201 a MGZP), CIC-UMSNH (proyecto 14.6 a MGZP) y a PROMEP-UAT (beca otorgada a RLZ).

## LITERATURA CITADA

1. Crawford RD. Introduction to Europe and diffusion of domesticated turkey from America. *Arch Zoot* 1992;4:307-314.
2. Losada H, Rivera J, Cortés J, Castillo A, González RO, Herrera J. Un análisis de sistemas de producción de guajolotes (*Meleagris gallopavo*) en el espacio suburbano de la delegación Xochimilco al sur de la Ciudad de México. *Livest Res Rur Develop* 2006;18:52.: <http://www.lrrd.org/lrrd18/4/losa18052.htm>.
3. López-Zavala R, Cano-Camacho H, Monterrubio-Rico TC, Chassin-Noria O, Aguilera-Reyes U, Zavala-Páramo MG. Morphological and productive characteristics of guajolote (*Meleagris gallopavo*) raised in backyard systems in Michoacán, México. *Livest Res Rur Dev* 2008;20:68.: <http://www.lrrd.org/lrrd20/5/lope20068.htm>.
4. Aquino RE, Arroyo LA, Torres HG, Riestra DD, Gallardo LF, López YBB. El guajolote criollo (*Meleagris gallopavo* L.) y la ganadería familiar en la zona centro del estado de Veracruz. *Tec Pecu Mex* 2003;41(2):165-173.
5. Camacho-Escobar MA, Hernández-Sánchez V, Ramírez-Cancino L, Sánchez-Bernal EI, Arrollo-Ledezma J. Characterization of backyard guajolotes (*Meleagris gallopavo gallopavo*) in tropical zones of Mexico. *Livest Res Rur Develop* 2008;20:50.: <http://www.lrrd.org/lrrd20/4/cama20050.htm>.
6. López-Zavala R, Monterrubio-Rico TC, Cano-Camacho H, Chassin-Noria O, Aguilera-Reyes U, Zavala-Páramo MG. Native turkey (*Meleagris gallopavo gallopavo*) backyard production systems characterization in the physiographic regions of the State of Michoacán, Mexico. *Tec Pecu Mex* 2008;46:303-316.
7. Chassin-Noria O, López-Zavala R, Cano-Camacho H, Suárez-Corona E, Juárez-Caratachea A, Zavala-Páramo MG. Genetic diversity and similarity between domestic Mexican turkey *Meleagris gallopavo* populations based on random amplification polymorphic DNA (RAPD). *Tec Pecu Mex* 2005;43: 415-424.
8. Christman CJ, Hawes R. Rare turkey varieties. In: American Livestock Breeds Conservancy editor. *Birds of feather, saving rare turkeys from extinction*. North Carolina, USA: Glover Printing, Inc. Raleigh; 1999: 25-52.
9. Madrigal SX. Ubicación fisiográfica de la vegetación en Michoacán, México. *Ciencia Nicolaita, UMSNH* 1997;15:65-75.
10. Dutton PH. Methods for collection and preservation of samples for sea turtle genetic studies. In: Bowen BW, Witzel WN editors. *Proc Intern Symp Sea Turtle Conserv Genetics*. NOAA Technical Memorandum, NMFS-SETSC-396 1996:17-24.
11. FitzSimmons N. Male marine turtles: gene flow, philopatry and mating systems of green turtles *Chelonia mydas* [PhD thesis]. Australia: University of Queensland; 1997.
12. Reed KM, Chávez LD, Hall MK, Knutson TP, Rowe JA, Torgersen AJ. Microsatellite loci for genetic mapping in the turkey (*Meleagris gallopavo*). *Anim Biotech* 2003;14:119-131.
13. Latch EK, Smith EJ, Rhodes Jr, OE. Isolation and characterization of microsatellite loci in wild and domestic turkeys (*Meleagris gallopavo*). *Mol Ecol Not* 2002;2:176-178.
14. Burt DW, Morrice DR, Sewalem A, Smith J, Paton IR, Smith EJ, Bently J, Hocking PM. Preliminary linkage map of the turkey (*Meleagris gallopavo*) based on microsatellite markers. *Anim Genet* 2003;34:399-409.
15. Goudet J. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices version 2.9.3. 2001; <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>. Accessed Feb 22, 2011.
16. Peakall R, Smouse PE. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetics software for teaching and research. *Mol Ecol Not* 2006;6:288-295.

17. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 1978;89:583-590.
18. Reynolds J, Weir BS, Cockerham CC. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 1983;105:767-779.
19. Excoffier L, Lischer HEL. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Res* 2010;10:564-567.
20. Felsenstein J. *Phylogeny Inference Package (PHYLIP)*. Version 3.5. Seattle, USA: University of Washington; 1993.
21. Page RD. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comp Applic Biosci* 1996;12:357-358.
22. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 2000;155:945-959.
23. Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 2005;14:2611-2620.
24. Hui-Fang L, Wei-Tao S, Jing-Ting S, Kuan-Wei C, Wen-Qi Z, Wei H, Wen-Juan X. Genetic diversity and population structure of 10 chinese indigenous egg-type duck breeds assessed by microsatellite polymorphism. *J Genet* 2010;89:65-72.
25. Smith J, Geng T, Long E, Pierson FW, Spoonenberg PD, Larson C, Gogal R. Molecular analysis of relatedness of five domesticated turkey strains. *Biochem Genet* 2005;43:35-47.
26. Berthouly C, Bed´Hom B, Tixier-Boichard M, Chen CF, Lee YP, Laloë D, Legros H, Verrier E, Rognon X. Using molecular markers and multivariate methods to study the genetic diversity of local European and Asian chicken breeds. *Anim Genet* 2008;39:121-129.
27. Granevitze Z, Hillel J, Chen GH, Cuc NTK, Feldman M, Eding H, Weigend S. Genetic diversity within chicken populations from different continents and management histories. *Anim Genet* 2007;38:576-583.
28. Kaya M, Yildiz MY. Genetic diversity among Turkish native chickens, Denizli and Gerze, estimated by microsatellite markers. *Biochem Genet* 2008;46:480-491.
29. Kong HS, Oh JD, Lee JH, Jo KJ, Sang BD, Choi CH, Kim SD, *et al.* Genetic variation and relationships of Korean native chickens and foreign breeds using 15 microsatellite markers. *Asian Aust J Anim Sci* 2006;19:1546-1550.
30. Tadano R, Sekino M, Nishibori M, Tsudzuki M. Microsatellite marker analysis for the genetic relationships among Japanese long-tailed chicken breeds. *Poult Sci* 2007;86:460-469.
31. Osei-Amponsah R, Kabang BB, Naazie A, Osei YD, Youssao JA, Yapi-Gnaore VC, Tixier-Boichard M, Rognon X. Genetic diversity of forest and savannah chicken populations of Ghana as estimated by microsatellite markers. *J Anim Sci* 2010;81:297-303.
32. Slatkin M, Barton NH. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 1989;43:1349-1368.
33. Li YC, Korol AB, Fahima T, Beiles A, Nevo E. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Mol Ecol* 2002;11:2453-2465.