



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Diversidad Genética de gallinas criollas del Suroccidente Colombiano mediante ADN mitocondrial

Herman Alberto Revelo Cuaspud

Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira
Facultad Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ciencia Animal
Ciudad de Palmira, Colombia

Año 2015

Diversidad Genética de gallinas criollas del Suroccidente Colombiano mediante ADN mitocondrial

Herman Alberto Revelo Cuaspud

Tesis o trabajo de investigación presentada como requisito parcial para optar al

título de:

Magister en Ciencias Agrarias

Directora:

Luz Ángela Álvarez Franco Zoot. MSc. Ph.D.

Codirector (a):

Jaime Góngora. Ph.D.

Línea de Investigación:

Producción animal tropical Grupo de Investigación:

Recursos Zoogenéticos

Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira

Facultad Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ciencia Animal

Ciudad de Palmira, Colombia

Año 2015

Agradecimientos

A nivel de aprendizaje académico y personal, agradezco profundamente a la Doctora Luz Ángela Álvarez por todo su aporte, por sus valiosas contribuciones con sus sabios consejos, por su lectura crítica y paciente de los textos, ayudándome a encontrar coherencia y orden en los borradores iniciales y finales.

Al profesor Jaime Góngora, por haber proveído las secuencias colombinas.

A la Doctora Julia Victoria Arredondo con su proyecto de investigación del cerdo criollo que posibilitó realizar gran parte del muestreo en el Pacífico Colombiano.

A la Universidad Nacional de Colombia por la formación profesional adquirida y el apoyo financiero ofrecido.

A mis amigos: Maura Chacua, Leidy Chacua, Yacenia Morillo Coronado, Laura Ramírez, Diego Quiroz y Martin Valenzuela, siempre estuvieron haciendo aportes significativos para perfeccionar el documento.

Finalmente agradezco el apoyo a personas que gentilmente nos acompañaron en el recorrido de campo, al profesor Encarnación, al profesor Emilio Arenas, Hesildo Pacheco y Janis Mosquera y un agradecimiento profundo a los avicultores que nos facilitaron los ejemplares para llevar a cabo esta investigación.

Resumen

La gallina criolla del Pacífico Colombiano es una especie utilizada en avicultura no especializada en la población rural, se caracteriza por su importancia social, cultural y económica. Se ha reconocido que la gallina fue introducida en América del Sur en el siglo XV con la llegada de los españoles, aunque se ha planteado una introducción pre-europea a través de contactos transoceánicos entre América, Asia o Polinesia. Algunos científicos han empleado marcadores moleculares de ADNmt para analizar fósiles prehistóricos y gallinas domésticas, pero aún no es claro el origen de la gallina criolla en América del Sur. El objetivo de este trabajo fue contribuir al conocimiento de la diversidad genética de las gallinas criollas del Pacífico Colombiano usando ADNmt. Se secuenció un fragmento de 530pb de la región control de 60 gallinas criollas pertenecientes a tres comunidades correspondientes a indígenas (Nariño), campesinas (Valle del Cauca) y afrodescendientes (Chocó). Las secuencias colombianas fueron analizadas y comparadas con dos conjuntos de datos correspondientes a 3162 secuencias de 480pb y 3223 secuencias de 200pb respectivamente. Los resultados mostraron la existencia de un pool altamente diverso en región hipervariable del ADNmt en las gallinas criollas del Pacífico Colombiano, debido a que 24 sitios polimórficos definieron 13 haplotipos y estos a su vez se agruparon con los haplogrupos E (86,6%), A (6.66%), C (5%) y B (1.66%). De la diversidad genética solo 4.4% de la variación total se debió a diferencias entre las gallinas en las tres comunidades. El índice de fijación (F_{ST}) para las tres poblaciones no fue significativo ($F_{ST}=0.04397\pm 0.045$), ($P>0.07429$), por lo tanto, no se detectó estructura genética. Estos resultados sugieren un origen europeo, dado que los documentos históricos muestran que los españoles la introdujeron. Los haplogrupos A, B y C es probable que hayan llegado al Pacífico Colombiano con la introducción de líneas comerciales.

Palabras clave: **Ancestría, Aves de traspatio, D-loop, Filogenia, Haplotipo, Molecular.**

Abstract

Native hen of the Colombian Pacific is one of the most commonly used species in aviculture not specialized of the rural population and is characterized by its cultural and economic importance. It has been recognized that the hen was introduced in South America in the fifteenth century with the arrival of the Spaniards. Although it has also raised a pre-European introduction, through transoceanic contacts between America, Asia and Polynesia. Some scientists have used molecular markers of mtDNA to analyze prehistoric fossils and nuclear DNA of native hens, but it is not still clear their origin in South America. The objective of the present work went to contribute to the knowledge of the genetic diversity of the native hens of the Colombian Pacific using mitochondrial DNA. A fragment of 530pb was sequenced and amplified of the control region of 60 native hens belonging to three communities: Indigenous (Nariño), peasants (Valle del Cauca) and Afro (Choco). Sequences were analyzed and compared with two groups of data corresponding to 3162 sequences of 480pb and 3223 sequences of 200pb; respectively. The results showed the existence of a highly diverse pool in the region hipervariable of the mtDNA in the native hens of the Colombian Pacific, due to 24 polymorphic sites defined 13 haplotypes and these in turn were grouped with the haplogroups E, A, C and B. In terms of genetic diversity only 4.4% of the total variation was due to differences among hens from the three communities. The fixation index (FST) for the three communities was not significant ($FST=0.04397\pm 0.045$), ($P>0.07429$), therefore genetic structure was not detected. These results suggest an European origin, since the historical documents show that the Spaniards introduced. It is probable that the haplogroups A, B and C have arrived in the Colombian Pacific with the introduction of commercial lines.

Key words: Ancestry, birds backyard, D-loop, phylogeny, haplotype, Molecular markers.

Contenido

	Pág.
Contenido	VII
Lista de figuras.....	9
Lista de tablas	10
Introducción	11
1. Estado de arte	13
1.1 Origen y estatus de la gallina criolla Colombiana	13
1.2 Sistemas de producción.....	14
1.3 Caracterización morfológica.....	14
1.4 Caracterización Genética.....	18
1.5 Caracterización zootécnica	19
1.6 Marcadores moleculares.....	21
1.7 El ADN mitocondrial.....	21
1.8 La domesticación de la gallina en Euroasia	23
1.9 La historia, arqueología lingüística y el ADNmt en el estudio de la gallina doméstica en el Pacífico y América del Sur.....	26
2. Objetivos.....	32
2.1 Objetivo general.....	32
2.2 Objetivos específicos	32
2.3 Hipótesis.....	32
3. Metodología	33
3.1 Muestreo.....	33
3.2 Extracción de ADN	33
3.3 Cuantificación de ADN	34
3.4 Electroforesis y visualización de ADN	34
3.5 Amplificación	34
3.6 Edición y alineación de secuencias	35
3.7 Análisis de las secuencias.....	35
3.8 Análisis filogenéticos	36
3.9 Análisis Estadístico	36
4. Resultados.....	37
4.1 Diversidad de la región control del ADN de la gallina criolla colombiana.	37
4.2. La diversidad genética de la gallina criolla del Pacífico Colombiano.....	44

4.3. Relaciones de la gallina criolla del Pacífico Colombiano con gallinas de todo el mundo.....	45
5. Discusión.....	53
5.1 La diversidad genética de la gallina criolla del Pacífico Colombiano.....	53
5.2 La gallina criolla colombiana y las relaciones con gallinas de todo el mundo.....	56
6. Conclusiones.....	60
Bibliografía	61
Anexo: Fotografías de las muestras Sexo y Región de muestreo.....	70

Lista de figuras

Pág.

- Figura 1.** Variación morfológica de gallinas criollas del Pacífico Colombiano. Fuente:Revelo y Valenzuela, 2014 _____ 17.
- Figura 2.** Curva de crecimiento promedio por sexo en gallina criolla. Fuente (Valencia *et al.* 2003) _____ 20.
- Figura 3.** Árbol filogenético de 60 secuencias de gallinas criollas del Pacífico Colombiano construido con Mega a través del algoritmo Neighbour-joining basado en el modelo de Kimura 2 parámetros. _____ 41.
- Figura 4.** Red de haplotipos generados a partir de 60 secuencias de ADNmt de gallinas criollas del Pacífico Colombiano. _____ 42.
- Figura 5.** Distribución geográfica de los haplogrupos A, B, C, y E, de acuerdo con la comunidad: Afros, indígena y campesina _____ 44.
- Figura 6.** Red de Haplotipos construida mediante el método Median joining de Networks 60 secuencias colombianas (color negro) comparadas con 3223 secuencias de ADNmt de 200pb que definen los haplogrupos (A-k) _____ 47.
- Figura 7.** Distribución geográfica de haplogrupos generados a partir de 3223 secuencias DNAm de 200pb y las relaciones con los haplogrupos hallados en el Pacífico Colombiano _____ 51.
- Figura 8.** Red de Haplotipos construida mediante el método Median joining de Networks a partir de un segmento de 480pb de ADNmt. Los nodos están coloreados de acuerdo al haplogrupo, los haplotipos colombianos están representados de color negro. _____ 52.
-

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Distribución de frecuencias de las variables cualitativas de gallinas criollas en el Pacífico Colombiano: Fuente (Revelo y Valenzuela, 2014) -----	15.
Tabla 2. Parámetros productivos de gallinas criollas en comunidades Afro, Campesinas e Indígenas en el Pacífico Colombiano (Chocó, Cauca, Nariño y Valle del Cauca): Fuente Revelo y Valenzuela, (2014) -----	20.
Tabla 3. Aves muestreadas en comunidades afrodescendientes, indígenas y campesinos en el Pacífico Colombiano -----	33.
Tabla 4. Secuencias de la región control del ADNmt, número de haplotipos y haplogrupos observados en 60 gallinas criollas del Pacífico Colombiano. Se presentan las posiciones que difieren con respecto a la secuencia consenso de Japón definida por Komiyama et al. (2003). (GenBank accesión N° AB098668).-----	39.
Tabla 5. Distribución de haplotipos y haplogrupos de acuerdo con la comunidad: Afro (Chocó), indígena (Nariño) y campesina (Valle del Cauca). N hace referencia al número de secuencias que conforman cada haplotipo. Los diferentes haplotipos encontrados en el Pacífico Colombiano definen cuatro haplogrupos (A, B, C, E). El haplotipo H2 es común en las tres comunidades -----	40.
Tabla 6. Distribución geográfica de de haplotipos y haplogrupos de acuerdo con la comunidad: Afro (Chocó), indígena (Nariño) y campesina (Valle del Cauca). -----	43.
Tabla 7. Análisis de varianza molecular entre y dentro de poblaciones de gallinas criollas del Pacífico Colombiano -----	44.
Tabla 8. El número calculado de sitios variables (S), Diversidad haplotípica (Hd) y Diversidad nucleotídica (Pi) generados a partir de polimorfismos de secuencia de ADNmt en gallinas criollas en tres comunidades del Pacífico Colombiano -----	45.
Tabla 9. Correspondencia entre haplotipos y haplogrupos reportado por (Miao <i>et al.</i> , (2013) con los obtenidos en el presente estudio, número de secuencias con las cuales se agruparon las secuencias colombianas de acuerdo a la red de haplotipos de ADNmt mediante Networks por el método de Median joining de 200pb. 200pb-----	48.

Introducción

Según West y Zhou (1988) el uso de evidencia arqueológica para la conocer domesticación de las gallinas de China, Asia y Europa reveló que fueron domesticadas por primera vez, a partir del red Jungle fowl especie *Gallus gallus gallus* en el sudeste de Asia y fueron establecidos en China hace 6000 a.C, más tarde fueron introducidos a Japón, a través de Corea durante los años 300 a.C-300 d.C. La domesticación ocurrió en la India mucho más tarde 2000 a.C. Actualmente se conoce que el red Jungle fowl especie *Gallus gallus gallus* aún se encuentra vivo y en estado salvaje con cinco subespecies como posibles progenitores en Asia (Underhill, 1997; Grimal *et al.*, 2011). Para seguir la distribución de las gallinas domésticas desde los centros de origen y domesticación de Asia a través de Medio Oriente, Europa y el mudo entero, se ha usado evidencia histórica (Hehn, 1888), arqueológica, (Crawford, 1990), también algunas investigaciones se han centrado en la reconstrucción de la historia matrilineal, a través, del análisis de un fragmento de ADNmt provenientes de fósiles prehistóricos así como de gallinas domésticas y silvestres, entre esos trabajos están; Miao *et al.*, 2013; Góngora *et al.*, 2008a; Thomson *et al.*, 2014; Dancause *et al.*, 2011; Storey *et al.*, 2007; 2010; 2012 entre otros. Los resultados de estas investigaciones han generado más de 425 haplotipos que definen alrededor de diez haplogrupos (A-K). Las secuencias generadas a partir de estas investigaciones están disponibles en la base de datos del GenBank.

En Colombia, la gallina criolla es una de las especies animales más usadas en la avicultura no especializada, es socialmente importante puesto que contribuye a la seguridad alimentaria, está arraigada a la cultura de los avicultores rurales, contribuye con la economía del núcleo familiar (Revelo y Valenzuela, 2014). Las principales ventajas de estas aves en comparación con líneas comerciales radican en rusticidad, resistencia a enfermedades, características organolépticas, cloquera, entre otras (Valencia, 2008). Se han adelantado algunos estudios descriptivos acerca de los sistemas de producción de avicultura Valencia, 1999; Revelo y Valenzuela, 2014. Así como algunos estudios de la morfología Revelo y

Valenzuela, 2014; Rúales *et al.*, 2009. Las curvas de crecimiento y postura han sido descritas por Valencia, 2003 y algunos parámetros productivos Revelo y Valenzuela, 2014. Se ha encontrado alta diversidad genética mediante marcadores microsatélites RAMs Revelo *et al.*, 2011; Muñoz *et al.*, 2007 y con microsatélites específicos Palacios *et al.*, 2013. Sin embargo, no se han reportado estudios enfocados en conocer como es la diversidad genética a nivel mitocondrial y las relaciones filogenéticas con gallinas de todo el mundo.

Dentro de este contexto, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo analizar la diversidad genética de gallinas criollas y las relaciones filogenéticas con gallinas de todo el mundo. Para ello, en el Pacífico Colombiano habitado por comunidades afrocolombianas, campesinas e indígenas, se analizó un fragmento de ADNmt de 530pb correspondiente a 60 secuencias de gallinas criollas pertenecientes a estas comunidades, fueron comparadas con secuencias provenientes de fósiles prehistóricos, así como de gallinas domésticas y silvestres reportadas en el GenBank. En este estudio se identificaron cuatro linajes maternos representados en haplogrupos (A, B, C, y E), estos linajes han contribuido en la formación de las gallinas criollas del Pacífico Colombiano.

1. Estado del arte

1.1 Origen y estatus de la gallina criolla Colombiana

Según Molina (2002), en Colombia era común la cacería de gallinas salvajes en el Putumayo y Llanos Orientales, estas aves posiblemente fueron descendientes de las gallinas introducidas en las primeras incursiones de los conquistadores y misioneros, puesto que las primeras gallinas llegaron a América en el segundo viaje de Colón. Sin embargo, al parecer algunas tribus indígenas antes de la llegada de los españoles ya practicaban la avicultura con gallinas provenientes desde Polinesia (Storey *et al.*, 2007; 2010). Actualmente se sabe que la avicultura de traspatio se desarrolla mediante la cría de patos, pavos y gallinas criollas (Revelo y Valenzuela, 2014). Generalmente se trata de animales resistentes, adaptables al entorno rural, sobreviven con pocos insumos y tienden adaptarse a las fluctuaciones en la disponibilidad de alimento (Zaragoza, 2012). En Colombia, la gallina criolla es socialmente importante por su aporte nutricional (huevos y carne) en pequeñas explotaciones campesinas que se encuentran alejadas de centros urbanos, además por su fácil reproducción, adaptabilidad y rusticidad (Revelo *et al.*, 2011; Muñoz *et al.*, 2007). La importancia zootécnica no es la producción de huevos para el mercado, porque se han medido producciones anuales muy bajas que oscilan entre 25 y 100 huevos, su racionalidad radica en producir mediante incubación natural pollos para los mercados campesinos (Valencia, 2008). En una comunidad afrocolombiana en el departamento de Chocó, Álvarez (2000) estudió el sistema de alimentación en gallinas y patos con el propósito de explorar la dinámica de esta producción en sistemas tradicionales, hallaron un total de 74 recursos empleados para la alimentación de gallinas, 10 de origen animal y 64 de origen vegetal. En el contexto actual desde comienzos del siglo XX se han desarrollado líneas especializadas de alta productividad en huevos y carne que han superado los índices de eficiencia y productividad, por lo tanto disminuyó la población de los tipos criollos al ser reemplazados por líneas

comerciales (Molina, 2002). Sin embargo, aún se encuentran gallinas criollas en el traspatio de los avicultores rurales (Revelo y Valenzuela, 2014).

1.2 Sistemas de producción

Valencia (1999) evaluó algunos tipos de gallina criolla bajo sistemas de producción de economía campesina, determinó que la importancia de la gallina consiste en aprovechar la cloquera. Por otra parte, Valencia (2008), identificó doce tipos de gallina criolla, ocho variedades de la subespecie *nanus*, también resaltó las características generales de cada subespecie y reconoce que ha existido un cruzamiento constante entre ellas desde antes del Descubrimiento de América.

Revelo y Valenzuela (2014) evaluaron los sistemas de producción tradicional de la gallina criolla en el Pacífico Colombiano mediante encuesta a 112 familias (campesinas, indígenas y afros). Los resultados mostraron que la cría de gallinas criollas es realizada por las mujeres afros, indígenas y campesinas 34,4%, 58,5% y 59,7% respectivamente. La producción es de doble propósito, se desarrolla el ciclo completo. El destino de la producción está enfocado principalmente al autoconsumo de aves y huevos. El manejo de gallinas se realiza en libertad, se alimentan principalmente con maíz, en menor proporción se usan residuos de cocina y cosecha, la gallina criolla aún se conserva en pequeños núcleos por los avicultores rurales, quienes afirmaron que criar gallinas es rentable puesto que no requiere inversión, además provee huevos y carne para el alimento de la familia, los excedentes generan recursos monetarios, resultados reportados por Zaragoza *et al.* (2011), coinciden con lo anterior en comunidades indígenas en Chiapas México.

1.3 Caracterización morfológica

Revelo y Valenzuela (2014) en el Pacífico Colombiano describieron fenotípicamente 232 gallinas criollas mediante la referenciación fotográfica, usaron diez caracteres morfológicos cualitativos recomendados por FAO (2010),

los resultados mostraron alta diversidad fenotípica, además encontraron similitudes en gran proporción con las gallinas españolas. Los resultados obtenidos se consignan en la Tabla 1 y, Figura 1. Por otro lado, Rúaless *et al.* (2009) encontraron que las gallinas criollas se encuentran distribuidas aleatoriamente entre las fincas de los avicultores sin ningún proceso de selección en particular.

Tabla 1. Distribución de frecuencias de las variables cualitativas de gallinas criollas en el Pacífico Colombiano. Fuente: Revelo y Valenzuela, 2014.

Variable		Machos		Hembras		Hembras y machos	
		Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%
Morfología de pluma	Normal	99	89,2	95	92,2	194	90,7
	Rizado	11	9,9	6	5,8	17	7,9
	Sedoso	1	0,9	2	1,9	3	1,4
	Total	111	100	103	100	214	100
Distribución de plumaje	Normal	69	62,2	57	55,3	126	58,9
	Cuello desnudo	16	14,4	11	10,7	27	12,6
	Plumas en tarsos	14	12,6	13	12,6	27	12,6
	Barbas y copete	1	0,9	13	12,6	14	6,5
	Cresta	1	0,9	5	4,9	6	2,8
	Patas de buitre	10	9,0	4	3,9	14	6,5
	Total	111	100	103	100	214	100
Patrón de plumaje	Plano	55	49,5	65	63,1	120	56,1
	Barrado	17	15,3	3	2,9	20	9,3
	Ribeteado	5	4,5	16	15,5	21	9,8
	Moteado	25	22,5	16	15,5	41	19,2
	otros	9	8,1	3	2,9	12	5,6
	Total	111	100,0	103	100	214	100,0
Color de plumaje	Blanco	14	12,6	12	11,7	26	12,1
	Negro	8	7,2	28	27,2	36	16,8
	Rojo	32	28,8	14	13,6	46	21,5
	Trigo	11	9,9	6	5,8	17	7,9
	Otros	46	41,4	43	41,7	89	41,6
	Total	111	100	103	100	214	100
Color de tarsos	Blanco	1	0,9	2	2,0	3	1,4
	Amarillo	87	80,6	41	41,4	128	61,8
	Verde	1	0,9	0	0,0	1	0,5
	Negro	2	1,9	14	14,1	16	7,7

Variable		Machos		Hembras		Hembras y machos	
		Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%
	Marrón	17	15,7	42	42,4	59	28,5
	Total	108	100	99	100	207	100
Color de lóbulo	Blanco	2	1,8	11	10,9	13,0	6,1
	Rojo	89	80,2	80	79,2	169,0	79,7
	Blanco Y Rojo	21	18,9	10	9,9	31,0	14,6
	Total	112	100,9	101	100	213	100,5
Tipo de Cresta	Simple	95	86,4	85	83,3	180	84,9
	Guisante	6	5,5	9	8,8	15	7,1
	Rosa	5	4,5	1	1,0	6	2,8
	Nuez	4	3,6	7	6,9	11	5,2
	Total	110	100	102	100	212	100
Tamaño de Cresta	Grande	61	55,0	5	4,9	66	31,0
	Mediana	24	21,6	15	14,7	39	18,3
	Pequeña	26	23,4	82	80,4	108	50,7
	Total	111	100	102	100	213	100
Color de ojo	Negro	21	18,9	35	35,4	56	26,7
	Rojo	46	41,4	23	23,2	69	32,9
	Perla	44	39,6	41	41,4	85	40,5
	Total	111	100	99	100	210	100
Variantes esqueléticas	Normal	94	84,7	91	88,3	185	86,4
	Crestado	3	2,7	6	5,8	9	4,2
	Dedos extra	1	0,9	0	0,0	1	0,5
	Enana	7	6,3	6	5,8	13	6,1
	Sin cola	6	5,4	0	0,0	6	2,8
	Total	111	100,0	103	100,0	214	100,0



Figura 1. Variación morfológica de gallinas criollas del Pacífico Colombiano.
Fuente: Revelo y Valenzuela, 2014.

1.4 Caracterización Genética

Muñoz *et al.* (2007) con marcadores moleculares RAMs analizaron 39 aves de gallinas criollas pertenecientes a los tipos carioco normal, copetón, santandereano, carioco rizado, tufus, tapuncho, zamarrón, finos, carioco sedoso y cubano, representativos de gallinas criollas Colombianas. Los resultados revelaron una alta diferenciación genética ($F_{ST}=0,62$) y una heterocigosidad de 0,32 con una similitud (Dice – Nei Li) 83% los Cubanos, Finos y Santandereanos formaron grupos independientes, posiblemente por procesos de selección para estos tipos específicos.

Revelo *et al.* (2011) estudiaron 100 gallinas criollas de los departamentos de Nariño, Chocó, Valle del Cauca y Putumayo, mediante siete cebadores RAMs (*Random Amplified Microsatellites*). El análisis reveló un 15% de varianza total correspondió a las diferencias entre las poblaciones y 85% dentro de las mismas. El análisis de correspondencia múltiple mostró claramente tres grupos, uno formado por animales de Chocó provenientes del municipio de Dubasa, un segundo grupo formado por animales de Chocó (municipios Meluk y Bahía Solano) y el tercero formado por Putumayo, Nariño y Valle del Cauca, lo cual indica que hay una estrecha relación geográfica entre departamentos, aunque las gallinas del Chocó forman un grupo diferente.

Palacios *et al.* (2013) evaluaron la diversidad genética, la estructura genética, el grado de endogamia y las relaciones entre poblaciones mediante 17 marcadores microsatélites en 224 muestras de gallinas criollas Colombianas de los departamentos de Cauca, Caldas, Chocó, Nariño, Valle y 20 muestras de líneas comerciales. Encontraron 79 alelos, el número promedio de alelos fue de $4.2 \pm 0,15$. La heterocigosidad esperada fue mayor que la observada y varió de 0.579 en Chocó a 0.610 en el Valle del Cauca. El FIS fue de 0,39 ($p<0,001$), sólo la población del Valle del Cauca no mostró desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg. La variación genética fue menor entre poblaciones (5,01%) que entre individuos (57,56%). La diferencia genética entre poblaciones estimada por el

FST fue baja (0.05 $p < 0,001$). Todas las poblaciones presentaron diversidad genética similar y un déficit de heterocigotos significativo, lo cual es un riesgo porque conlleva a la expresión de genes indeseables, aparición de enfermedades genéticas, compromete la viabilidad, disminuye la producción y reproducción.

1.5 Caracterización zootécnica

Son pocos los trabajos que describen los atributos zootécnicos de gallinas criollas. Valencia (2003) evaluó las curvas de crecimiento y postura en variedades tufos, tapuncho, carioco y chusco: hasta las ocho semanas de vida las aves de uno y otro sexo presentaron un crecimiento lento, a partir de esa edad y hasta las 22 semanas un crecimiento rápido, a partir de las 26 semanas se estabilizó por el inicio de la madurez sexual y de la postura para las hembras a partir de las 24 semanas; los machos y hembras criados con su madre en incubación natural lograron la máxima velocidad de crecimiento a las 12 semanas con una ganancia de peso de 183.6 g y 129.35 g por semana respectivamente (Figura 2). En 20 gallinas criollas, se encontró un promedio de 71 días de cloquera al año con cifras extremas entre 64 y 80 días; para una producción anual promedio de 40 huevos en el primer año, con extremos de 25 y 57 huevos.

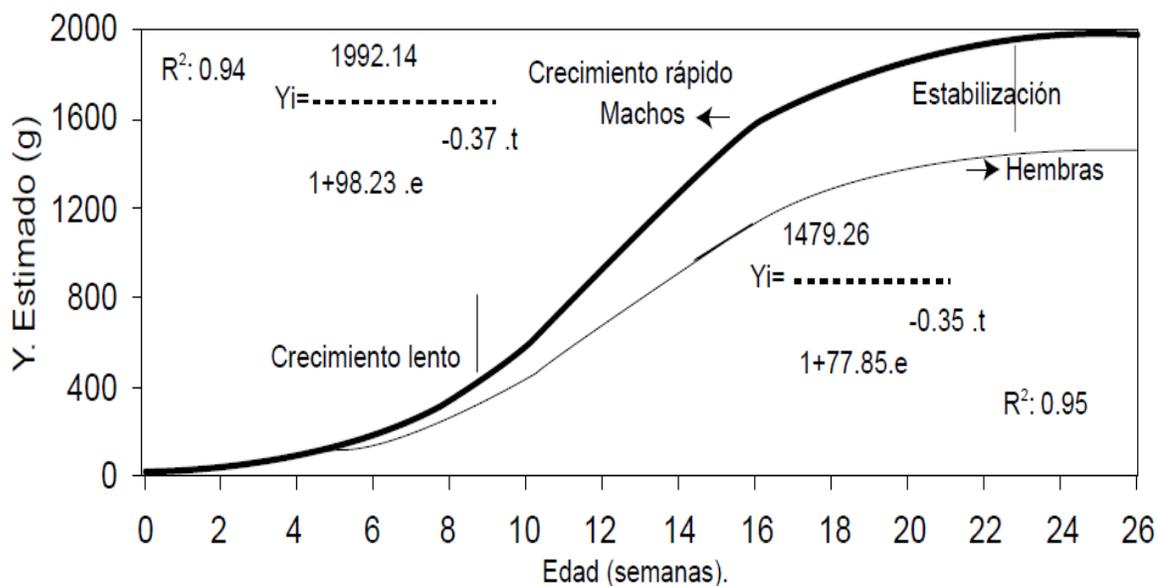


Figura 2. Curva de crecimiento promedio por sexo en gallina criolla. Fuente: Valencia, 2003.

Revelo y Valenzuela (2014) en comunidades afros, indígenas y campesinas en el Pacífico Colombiano estimaron algunos parámetros productivos de gallinas criollas (Tabla 2).

Tabla 2. Parámetros productivos de gallinas criollas en comunidades afro, campesinas e indígenas en el Pacífico Colombiano (Chocó, Cauca, Nariño y Valle del Cauca). Fuente: Revelo y Valenzuela, 2014.

Parámetros	afros				indígenas				campesinas			
	Total	Media	Min	Max	Total	Media	Min	Max	Total	Media	Min	Max
Machos	142	4,4	0	17	165	3,4	0	19	71	2,7	0	8
Hembras	401	12,5	1	50	511	10,6	0	40	308	11,8	1	50
Aves postura	138	4,3	0	30	278	5,2	0	19	143	5,5	0	17
Huevos día	133	4,2	0	30	229	4,3	0	12	147	5,7	0	30
Gallinas cluecas	51	1,6	0	6	69	1,3	0	6	18	0,7	0	3
Inicio Postura (meses)	-	8,2	3	16	-	7,1	3	10	-	5,8	0	10
Huevos antes de encluecar	384	12,0	5	20	820	15,4	2	30	342	13,7	0	30
Huevos Incubados		10,2			-	10,6	5	20	-	10,9	0	22
Pollos /nidada	293	9,2	0	18	466	8,4	3	12	243	9,3	0	22
Mortalidad /nidada	113	3,5	0	13	120	2,3	0	6	30	1,2	0	5

1.6 Marcadores moleculares

Hasta las últimas décadas del siglo XX, la caracterización de los recursos genéticos animales se basaba en descriptores morfológicos y productivos, resultaban insuficientes para distinguir entre razas puras para estimar la diversidad genética. Posteriormente la asociación de datos fenotípicos, polimorfismos moleculares y metodologías estadísticas adecuadas, permitió obtener información parcial sobre la evolución de las razas, el desarrollo de “pools” génicos y la magnitud de las diferencias entre razas (MacHugh *et al.*, 1997; Bruford *et al.*, 2003).

1.7 El ADN mitocondrial

Las mitocondrias son organelos intracelulares del citoplasma celular con una doble hélice circular de ADN. Es una molécula circular covalentemente cerrada de tamaño pequeño (16-20 kb), conformada por un total de 37 genes (13 ARN mensajeros, 2 ARN ribosomales y 22 ARN de transferencia) y una región conocida como la región control (1 Kb) o D-loop que controla la replicación y transcripción en la molécula, tiene una tasa excepcionalmente alta de sustitución y de polimorfismos en muchos taxones (Vázquez *et al.*, 2009; Brown 1985; Anderson *et al.*, 1982). El ADNmt tiene una serie de particularidades con respecto al ADN nuclear: sus genes no poseen intrones, las dos cadenas de ADN se denominan ligeras (L) y pesadas (H) siendo una rica en purinas y otra en pirimidinas, su herencia es exclusivamente vía materna, sin recombinación. El ADNmt es usado para estudios de domesticación y relaciones filogenéticas por sus características y funciones específicas: se conserva evolutivamente lo suficientemente para permitir la identificación de la población ancestral que dió origen a la población en estudio, es variable y está estructurado geográficamente lo cual permite la localización aproximada del sitio de domesticación, evoluciona rápidamente a una tasa constante lo que permite la identificación del origen y distribución de los animales domésticos (Bruford *et al.*, 2003).

Estas características permiten a los científicos reconstruir relaciones evolutivas dentro de una especie y entre distintas especies valorando las pautas de mutación del ADNmt, también permite la detección de hibridación entre especies o subespecies. Los polimorfismos en la secuencia de la región hipervariable del D-loop han contribuido en gran medida a identificar los progenitores salvajes de las especies domésticas, establecer pautas geográficas de diversidad genética y a entender la domesticación de los animales (FAO, 2010). Sin embargo, el uso de ADNmt presenta problemas tales como alta sensibilidad a cuellos de botella y la posibilidad de que su herencia materna resulte en una reconstrucción incompleta de la historia poblacional si hembras y machos tienen patrones de dispersión diferentes (Awise, 2000). El D-loop, tradicionalmente amplificado para estudios filogenéticos y reconstrucción de las historias de poblaciones de las aves (Storey *et al.*, 2012).

Desjardins y Morais (1990) secuenciaron el genoma mitocondrial de la gallina Leghorn y hallaron que está compuesto de 16.775 pb y codifica para un conjunto de genes (13 ARN mensajeros, 2 ARN ribosomales y 22 ARN de transferencia) igual que el ADNmt de los vertebrados, aunque encontraron una organización diferente en los genes cerca de la región control (D-loop) que involucra genes codificadores de proteínas. La secuencia de referencia la región control de las aves tRNAProtRNAThr citocromo b - tRNAGlu ND6 ND5, se convirtió en ADNmt aviar, tRNAGluND6 tRNAProtRNAThr citocromo b - ND5.

Durante la década de los 90, Desjardins y Morais (1990) presentaron a la comunidad científica el genoma mitocondrial secuenciado y organizado, lo cual permitió realizar muchos estudios en la gallina doméstica (Liu *et al.*, 2006; Oka *et al.*, 2007; Miao *et al.*, 2013; Langford *et al.*, 2013; Storey *et al.*, 2007; Góngora *et al.*, 2008a). Estos estudios permitieron verificarla variabilidad genética no nuclear, para estudiar los mecanismos de evolución domesticación y migración de las gallinas domésticas y la posterior división de haplotipos.

1.8 La domesticación de la gallina en Eurasia

La domesticación de aves está fundamentada bajo la arqueología, historia, lingüística, morfología y genética molecular. La historia de la domesticación posiblemente puede descomponerse en tres períodos distintos de tiempo; el primero y más largo es la fase de evolución, el último ancestro común de los mamíferos y las aves vivió hace 300 millones de años, el ancestro común más reciente entre el pollo y la codorniz vivió hace 40 millones de años. La segunda fase comienza con la domesticación de la especie, hace varios miles de años y condujo a la diversificación de las razas domésticas. La última y reciente etapa de intensa selección para los rasgos de producción y apariencia fenotípica dio origen a un subconjunto de tipos de gallinas distribuidas a nivel mundial (Boichard *et al.*, 2011).

West y Zhou (1988) mediante evidencia arqueológica estudiaron la domesticación de las gallinas en China, Asia y Europa; los resultados mostraron que las gallinas tienen como ancestro común el red Jungle fowl especie *Gallus gallus gallus* originario del Sudeste de Asia, después de la domesticación se distribuyó en China hace 6000 años, posteriormente fue introducida a Japón a través de Corea. La domesticación se produjo en la India mucho más tarde, 2000 a.C procedente del Sudeste de Asia. En la actualidad, se reconocen cuatro especies de gallinas salvajes correspondientes a *Gallus varius*, *Gallus sonnerati*, *Gallus lafayetti*, y red Jungle Fowl (*Gallus gallus gallus*), la última especie salvaje se divide en cinco subespecies como posibles progenitores: *G. g. gallus* en Tailandia, *G. g. spadiceus* en Birmania y la provincia de Yunan en China, *G. g. jabouillei* en el Sur de China y Vietnam, *G. g. murghi* en la India y *G. g. bankiva* en la Isla de Java. Sin embargo, todavía no está claro cuántas subespecies han contribuido al origen de las gallinas domésticas (Grimal *et al.*, 2011).

Algunos estudios moleculares previos sugerían la existencia de un único centro de domesticación situado en Asia Suroriental en Tailandia (Fumihito *et al.*, 1994; 1996). Otros estudios han investigado el origen y la dispersión de aves

domésticas en Eurasia Liu *et al.* (2006) y Oka *et al.* (2007), concluyeron que se produjeron múltiples eventos de domesticación sucesivos en Sudeste de Asia, el Sur de China y el Subcontinente Indio.

Liu *et al.* (2006) evaluaron los orígenes y la historia filogenética analizando la región hipervariable D-loop de ADNmt en 834 gallinas domesticas *Gallus gallus domesticus* a través de Eurasia, se incluyeron 66 secuencias de cuatro subespecies del gallo rojo *G.g. spadiceus* y *G.g. gallus*, *G. g. jabouillei* y *G. g. Bankiva* del Sudeste Asiático y China. Los resultados revelaron nueve haplogrupos muy divergentes correspondientes a (A-I) definidos por 169 haplotipos, de los cuales siete incluyeron tanto individuos silvestres como domésticos. El haplogrupo E predominó en Europa, Oriente Medio e India, mientras que los haplogrupos A y B mostraron una distribución principalmente en el Sur de China y Japón. El haplogrupo C se encontró principalmente en aves de Japón y el Sudoeste de China, mientras que F y G sólo se hallaron en la parte Norte del Suroeste de China. El haplogrupo D se asoció con gallos de pelea y fue el más frecuente en el gallo rojo en Asia. El haplogrupo H sólo se encontró en el gallo rojo principalmente en Vietnam. No se observaron matrilineas asociadas a razas específicas. La distribución de los patrones y las rutas de expansión soportan la teoría de múltiples orígenes de domesticación en el Sur y en el Sureste de Asia. Los resultados presentados en este estudio se han convertido en el marco de referencia empleado en nuevas investigaciones con enfoques al conocimiento de la distribución geográfica y origen de las gallinas domésticas a nivel mundial.

Miao *et al.* (2013) en uno de los trabajos más extensos y completos en Eurasia, analizaron 2044 secuencias de ADNmt de gallinas domésticas y 51 secuencias del red Jungle fowl de en China, India y el Suroeste de Asia, fueron comparadas con 2843 secuencias de gallinas domésticas y 155 secuencias del red Jungle fowl reportadas en el GenBank. Se seleccionaron 50 muestras representativas para secuenciar el genoma completo de ADNmt. Los resultados revelaron la presencia

de los haplogrupos (A-I) y (W-Z). Los linajes maternos más comunes fueron (A-G) y estuvieron compartidos por las gallinas domésticas y el gallo rojo; además se encontraron cuatro haplogrupos raros correspondientes a (H-W) y (I-Z) específicos para gallinas domésticas y el gallo rojo respectivamente. Los resultados revelaron que los linajes de las gallinas domésticas y el red Jungle fowl están mezclados, por lo tanto, se vuelve más complejo entender la historia de la domesticación. Se identificaron varios eventos de domesticación en el Sur de Asia, el Suroeste de China y el Sudeste de Asia.

Langford *et al.* (2013) analizaron la diversidad genética con secuencias ADNmt provenientes de 27 gallinas salvajes de la isla Norfolk, también incluyó 48 gallinas domésticas del continente Australiano, fueron comparadas con 3.063 secuencias de aves domésticas de Europa, Asia, África, Oceanía, las Américas y del red Jungle fowl a partir de secuencias publicadas en el GenBank. Los resultados revelaron once haplotipos distribuidos entre la isla de Norfolk y el continente Australiano, seis de los haplotipos de la Isla Norfolk pertenecen al haplogrupo E. También se encontró un haplotipo común entre la isla de Norfolk y Australia que pertenece a un subgrupo del haplogrupo D. Según estos resultados, al parecer dos haplogrupos (D y E) principalmente, han contribuido a la composición genética de gallinas salvajes en la isla de Norfolk.

En África Mwacharo *et al.* (2011) analizaron la diversidad genética de 512 aves domésticas mediante secuencias de ADNmt, los haplogrupos A y D fueron los de mayor frecuencia. Se sugirió un posible origen del haplogrupo D en el Subcontinente Indio, el linaje A se encontró en el Sudeste de Asia Oriental con una posible introducción marítima a lo largo de la costa de África Oriental. Los haplogrupos B, C y E se observaron en menor frecuencia, al parecer los linajes C y B son el resultado de la introducción de líneas comerciales, E es originario de la provincia de Yunnan en China, pero actualmente tiene una distribución mundial.

Adebambo *et al.* (2009) en gallinas nativas del Sur y el Norte de Nigeria sólo encontraron el haplogrupo D, Muchadeyi *et al.* (2008) en Zimbabwe, Malawi y Sudán, hallaron dos linajes maternos: el haplogrupo A del Sudeste Asiático y el haplogrupo D de origen Indio, Mtileni *et al.* (2011) en cuatro poblaciones en Sur África, hallaron múltiples linajes maternos de las gallinas, distribuidos en los cinco principales haplogrupos, A, B, C, E siendo D el de mayor frecuencia.

1.9 La historia, arqueología lingüística y el ADNmt en el estudio de la gallina doméstica en el Pacífico y América del Sur

Hace más de 30 años, se han venido dando continuos debates entre la comunidad científica acerca de la presencia de la gallina doméstica en América del Sur, a consecuencia del planteamiento de dos hipótesis: La hipótesis más común y reportada en los libros de avicultura es que la gallina doméstica fue introducida en América por los españoles y/o portugueses, y las primeras introducciones posiblemente se realizaron en la costa Este de Sur América alrededor del año 1500 (Nordenskiöld, 1922; Seligmann, 1987).

La segunda hipótesis sugiere un origen precolombino que tiene como punto de partida la Isla de Pascua en el Océano Pacífico a 3700 km de la costa chilena. Según Burland (1967), los primeros pobladores llegaron a la Isla hace más de mil años, posiblemente emigrantes de las Islas de Polinesia y junto a ellos llegaron las gallinas.

Ramírez y Matisoo-Smith (2008) argumentaron la posibilidad de que las gallinas se encontraran presentes en América antes del contacto con los europeos, basándose en la lingüística, relatos de cronistas de Indias, la morfología comparada de gallinas contemporáneas de lugares geográficos muy distantes entre sí, pero no era posible dar soportes concluyentes de la introducción de gallinas en América a partir de los posibles contactos transpacíficos (Polinesia), porque la datación empírica y argumentos teórico-metodológicos tradicionales eran insuficientes. Bajo este contexto, Storey *et al.* (2007) analizó fósiles

prehistóricos de gallinas recuperados del yacimiento arqueológico ubicado en la zona de Arauco (Arenal-1) en Chile. Los análisis de carbono radioactivo mostraron una data de 1.304-1.424 años d.C. fecha antes de que portugueses y españoles llegaran a América del Sur. Los análisis de ANDmt de ese material arqueológico revelaron la presencia del haplogrupo E, el mismo linaje también lo compartieron las gallinas contemporáneas de ese lugar, de igual manera estuvo presente en huesos prehistóricos recuperados de yacimientos arqueológicos de las islas de Tonga y Samoa. Desde ese entonces, la comunidad científica ha venido haciendo uso del material arqueológico para re-evaluar los rasgos “polinésicos” descritos en la cultura Mapuche y proponer nuevas líneas de investigación en el marco de un renovado paradigma (Ramírez y Matisoo-Smith, 2008).

Latcham (1927) afirmó que en algunas comunidades indígenas de Chile, Bolivia y Perú se conocían por lo menos tres variedades de gallinas domesticadas por los indígenas, se conocían como Trintre, Collonca y Francolina aún se crían en estos países. Wilhelm (1957; 1978) recopiló los antecedentes históricos y bibliográficos con respecto a “gallinas Araucanas” y describió las características fenotípicas de gallinas contemporáneas en el Sur de Chile.

Dürigen (1931) reconocido cronista de Indias, afirmó que dentro de las posibles rutas de distribución universal de la gallina doméstica, una de ellas fue llevada a las islas del Océano Pacífico: “la gallina recorrió con el hombre la Oceanía entera, esto es todas las islas grandes y pequeñas y grupos de islas de la Melanesia, Micronesia y Polinesia hasta llegar a la Isla de Pascua”.

Patiño (1970) afirmó “no hay pruebas de que esta especie fuera conocida de los pueblos continentales americanos antes de la llegada de los europeos”. Sin embargo, Yen (1974) encontró restos de raíces de batata o camote en la isla Manglaría, en el archipiélago de la isla de Cook (localizado en el Océano Pacífico, entre Hawái y Nueva Zelanda), fechado alrededor del año 1000 d.C, se sabe que

la batata es originario de América del Sur, por la cual se ha presumido la posibilidad de que aves migratorias hayan llevado las semillas de batatas a Polinesia o es más probable un posible contacto de los polinesios con América del Sur.

Según Ramírez y Matisoo-Smith (2008) la lingüística y la mitología aportan evidencias de la introducción pre-europea, desde contactos transoceánicos entre América y Asia o Polinesia, asociando la gallina con la cultura y lingüística asiática. Del mismo modo existen ciertas creencias o prácticas de la antigua China, en las cuales usan el huevo y la sangre de gallina para rituales que también son encontradas en los pueblos originarios de Sudamérica.

Castello (1921) presentó por primera vez la gallina araucana, en un congreso mundial de avicultura celebrado en la Haya en Septiembre de 1921 como *Gallus inauris*, haciendo énfasis en sus características fenotípicas y el color de los huevos.

Otros indicios que probarían el arribo de polinesios a la zona del Arauco son seis cráneos encontrados en la isla Mocha con la típica forma pentagonal, es una característica particular de los polinesios, al parecer algunos de ellos vivieron en esas islas en tiempos prehispánicos, desde 1903 se han descrito rasgos morfológicos polinesios en cráneos en esas islas (Matisoo-Smith y Ramírez, 2008).

Storey *et al.* (2010) analizaron fósiles prehistóricos recuperados en una serie de yacimientos arqueológicos al parecer pre-europeos en algunos archipiélagos de Polinesia (Tonga, Niue, Hawái y la Isla de Pascua). Los resultados revelaron que los huesos arcaicos hacen parte del haplogrupo E y D y están relacionados con restos arcaicos, también con gallinas contemporáneas encontrados en Vanuatu, Tonga y Samoa, estos archipiélagos fueron colonizados por la cultura Lapita, (fue una cultura neolítica que se extendió desde la costa norte de Nueva Guinea y el archipiélago Bismarck hasta Nueva Caicedonia en el Oeste del Océano Pacífico.

Góngora *et al.* (2008a) estudiaron 41 secuencias de ADNmt de gallinas araucanas, además incluyó secuencias antiguas de ADNmt generadas a partir de fósiles prehistóricos de gallinas analizadas por (Storey *et al.*, 2007). Los resultados mostraron 17 sitios polimórficos y ocho haplotipos, las secuencias provenientes de las gallinas araucanas se agruparon con el linaje materno E, que se distribuye principalmente en Europa, India Subcontinental y el Sudeste de Asia. La única secuencia aparentemente precolombina se agrupó con el haplotipo E1 descrito por Liu *et al.* (2006). Este hallazgo elimina cualquier soporte genético para la hipótesis de una introducción de gallinas en América del Sur desde Polinesia. Al parecer, tres linajes maternos han contribuido con la formación de las gallinas araucanas en Chile, principalmente, el linaje E1 de Europea, India Subcontinental y en menor proporción los linajes A y B de Sur de China y Japón.

Bajo este contexto, Góngora *et al.* (2008b) señalaron que los fósiles encontrados en Chile no soportan la hipótesis de un contacto transoceánico desde Polinesia con América del Sur en la época precolombina como lo manifestó en estudios previos (Storey *et al.*, 2007; 2010). Góngora *et al.* (2008b) argumentaron que la evidencia arqueológica y lingüística es conjetural e insuficientes para dar soporte a los contactos transoceánicos con América del Sur. En segundo lugar, el análisis de las secuencias antiguas ADNmt generadas por los fósiles recuperados de yacimientos arqueológicos en el Arenal-1 y las gallinas modernas de Chile comparten un linaje materno común correspondiente al haplogrupo E1 y está distribuido en todo el mundo. Además, ninguno de los linajes encontrados en los fósiles analizados de gallinas de la Isla de Pascua comparten el haplotipo E1, solo se encontraron linajes correspondientes al haplogrupo D. Por otro lado sugirieron que las fechas de radiocarbono de los fósiles encontrados en Chile pertenecen a fechas de un período post-colombino y las similitudes entre los linajes antiguos y modernos para las gallinas chilenas soportan una introducción europea. Al parecer, el linaje del haplogrupo E encontrado en los fósiles prehistóricos en la isla de Pascua y algunos archipiélagos de Polinesia son el resultado de contaminación con ADN de gallinas contemporáneas que

probablemente afectaron los estudios previos reportados por (Storey *et al.*, 2007; 2010).

En un estudio global realizado por Storey *et al.* (2012) analizaron 92 huesos prehistóricos de gallinas mediante ADNmt. Los datos de secuencia se obtuvieron de 48 de las muestras. Estos incluyeron; 31 muestras del Pacífico (incluyendo las islas Salomón, Micronesia, Vanuatu, Tonga, Samoa, Niue, Hawái y la Isla de Pascua); dos muestras procedentes de Tailandia; cinco muestras de la España medieval; tres muestras de un sitio precolombino en Chile; y siete muestras del período histórico en las Américas. En general, se detectaron tres haplogrupos en los restos antiguos. Una muestra fue asignado al haplogrupo (B), 17 al haplogrupo (D) y 30 pertenecían al haplogrupo (E). El análisis de los 31 huesos prehistóricos del Pacífico revelaron dos principales haplogrupos, D y E de las cuales 15 pertenecen al haplogrupo E y 16 al haplogrupo D. La presencia el haplogrupo E en los fósiles de gallinas recuperados del Pacífico especialmente en la isla de Pascua y la similitud con los huesos prehistóricos de Chile al parecer son evidencias para una introducción de gallinas desde Polinesia hacia América del Sur. Al parecer hubo dos vías de dispersión de las gallinas en América, en primer lugar, fueron introducidos por los polinesios hace 600 años y más tarde por los europeos hace 500 años, la presencia del linaje materno D encontrado en Perú parece indicar una introducción pre-colombina de gallinas doméstica en América del Sur. Pero tal como lo había supuesto Góngora *et al.* (2008a) sobre una posible contaminación de AND moderno con el ADN de los fósiles prehistóricos en los estudios previos proporcionados por (Storey *et al.*, 2007) fueron comprobados por Thomson *et al.* (2014). Para ello analizaron los orígenes y dispersión de gallinas ancestrales de Polinesia a través del Pacífico utilizando técnicas específicas que permitieron eliminar contaminación de ADN antiguo con moderno.

Thomson *et al.* (2014) analizaron 22 fósiles arqueológicos de gallinas ancestrales provenientes de Hawái, Rapa, Nui y 122 secuencias de gallinas contemporáneas

de Polinesia y Suroeste de Asia, además incluyeron un conjunto de datos de secuencias originadas de otros estudios a nivel mundial. Los resultados revelaron que las muestras de fósiles prehistóricos así como de gallinas contemporáneas compartieron un linaje materno único correspondiente al haplogrupo D, el cual tiene la particularidad de encontrarse sólo en el Pacífico, al parecer representa los auténticos linajes fundadores de las gallinas en el Pacífico, (Micronesia y la Polinesia). Hasta la fecha no se han encontrado linajes del haplogrupo D en gallinas contemporáneas en América del Sur, tampoco en huesos prehistóricos. Thomson *et al.* (2014) argumentaron en contra de los informes proporcionados por (Storey *et al.*, 2007; 2010; 2012) a consecuencia de que los linajes maternos del haplogrupo E encontrados en los huesos prehistóricos en Polinesia y la isla de Pascua fueron producto de contaminación con ADN de gallinas contemporáneas, esto tiene implicaciones para los huesos precolombinos de Chile. Por lo tanto, no hay soporte para una evidencia fiable de la dispersión de las gallinas precolombinas desde Polinesia hacia América del Sur.

En Brasil, Pagani (2011) investigó la variabilidad genética nuclear y no nuclear en dos linajes de gallinas caipiras, Aves de linaje caipira Pedrés de Paraíso (PP) y linaje caipira Negra Carmesí (NC). Los resultados de este estudio revelaron un linaje europeo 100% correspondiente al haplogrupo E para el linaje de gallinas caipiras (PP), mientras que para el linaje de gallinas (NC) se encontraron dos linajes maternos correspondientes a E (60%) y un 40% de linajes asiáticos (A, C). Por lo tanto, el linaje de gallinas (NC) está conformado por linajes europeos y asiáticos en proporciones de un 60 y 40% respectivamente, mientras que el linaje de gallinas (PP) es 100% europeo.

Herkenhoff (2013) analizó la variabilidad genética de gallinas caipiras (PP) de huevos azules mediante ADNmt. Los resultados mostraron un 89,52% correspondiente al haplogrupo A, para C (7,62%) originario del Sureste de Asia y sólo 2,86% para el haplogrupo E; estos resultados sugieren que las gallinas caipiras (PP) de Brasil se formaron a partir de linajes asiáticos principalmente, y en menor proporción linajes europeos.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Estimar la diversidad genética de la gallina criolla en el Sur Occidente Colombiano mediante ANDmt en comunidades indígenas, afrodescendientes, campesinas y obtener criterios para la conservación.

2.2 Objetivos específicos

Identificar los linajes maternos presentes en las gallinas criollas en tres comunidades del Sur Occidente Colombiano.

Determinar las posibles relaciones entre gallinas criollas del Pacífico Colombiano y la reconstrucción de posibles conexiones con gallinas de Europa y Asia, mediante la comparación con secuencias depositadas en el GenBank.

2.3 Hipótesis

Hipótesis 1

La población de gallinas criollas actualmente existentes en comunidades indígenas, campesinas y afrodescendientes de la región del Pacífico Colombiano es altamente diversos a nivel mitocondrial.

Hipótesis 2

Si las gallinas criollas actualmente existentes en la población rural del Pacífico Colombiano comparten linajes maternos en altas frecuencias con gallinas europeas, entonces es más probable un origen europeo, dado que los documentos históricos muestran que los españoles la introdujeron desde la época de la Colonia.

3. Metodología

3.1 Muestreo

Se realizaron muestreos entre 2011 y 2012 en el Suroccidente Colombiano, comprendido por los departamentos del Chocó, Valle del Cauca y Nariño. (Tabla 3). Se tomaron 60 muestras de sangre con un volumen de 0.5 ml mediante punción en la vena humeral. Los muestreos se realizaron mediante previa autorización de los Consejos Comunitarios que representan legalmente los intereses de las comunidades afros; de la misma manera se realizó en las comunidades indígenas y campesinas. En el Anexo 1, se presenta el sexo y la fotografía de cada una de las muestras utilizadas.

Tabla 3. Aves muestreadas en comunidades afrodescendientes, indígenas y campesinos en el Pacífico Colombiano.

Comunidad	Departamento	Municipio	Nº	Total
afro	Chocó	El Valle	5	22
		Medio Baudó	10	
		Alto Baudó	7	
campesina	Valle del Cauca	Buga	1	12
		Palmira	10	
		Guacarí	1	
indígena	Nariño	Potosí	6	26
		Ipiales	4	
		Córdoba	10	
		Puerres	6	
Total				60

3.2 Extracción de ADN

El procesamiento del ADN se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, mediante el protocolo *Salting out* (Miller *et al.*, 1988).

3.3 Cuantificación de ADN

Para determinar la concentración del ADN de las aves muestreadas se realizó una curva de dilución con ADN del bacteriófago Lambda de concentración inicial (539 ng / μ l) y concentración final de 20 ng / μ l. Se realizó la electroforesis con los patrones del bacteriófago lambda, posteriormente se comparó la intensidad de la banda de cada una de las muestras con los patrones de lambda para finalmente determinar la concentración en ng / μ l.

3.4 Electroforesis y visualización de ADN

La cantidad y calidad del ADN se evaluó en geles de agarosa al 0.8%, teñidos con bromuro de etidio en una cámara Maxicell Primo EC-340[®]. La electroforesis se corrió a 80 voltios durante una hora. El gel se observó en transiluminador. El ADN cuantificado se diluyó en agua tipo HPLC a un volumen total de 50 μ l a 10 ng/ μ l y se almacenó -20°C para su conservación.

3.5 Amplificación

Para la amplificación, se empleó la región hipervariable del fragmento de ADNmt con un tamaño de 530pb, porque es altamente polimórfico e informativo para el estudio de las poblaciones de gallinas, como se demuestra en estudios reportados (Liu *et al.*, 2006; Góngora *et al.*, 2008a; Razafindraibe *et al.*, 2008) entre otros. Para amplificar la región D-loop se utilizaron los primers 5'-AGGACTACGGCTTGAAAAGC-3' y 5'-TGTGCCTGACCGAGGAACCAG-3', de acuerdo con (Góngora *et al.*, 2008a). La PCR se realizó en un volumen de 25 μ l, 1X PCR buffer, 1.5 mM MgCl₂, 0.12 mM dNTPs, 20 picomoles por cada primer y 2 Ude Taq DNA polimerasa (Promega[®], Madison, Wisconsin). Las condiciones de PCR incluyeron una desnaturalización inicial de 94°C por dos minutos seguido por 35 ciclos de 25 segundos a 94°C, 35 segundos a 58°C y 1 minuto 10 segundos a 72°C, y una extensión final de 10 minutos a 72°C. La generación de las amplificaciones se llevó a cabo en la Universidad de Sidney, Australia,

mientras que la limpieza y la secuenciación de Sanger se llevaron a cabo en Australian Genome Research Facility Ltd (Brisbane).

3.6 Edición y alineación de secuencias

La edición de las secuencias se realizó empleando el software Geneious[®] y la alineación con Clustal de Mega 4.0[®] (Tamura *et al.*, 2007), utilizando como secuencia de referencia la accesión del GenBank no. AB098668. Los sitios ambiguos (Y,M,R) se sustituyeron utilizando la nomenclatura definida por la IUPC(R:A/G, Y: C/T, M: A/C, W: A/T, S: C/G, K: G/T, B: C/G/T, D: A/G/T, H: A/C/T, V: A/C/G, N: A/C/G/) mediante el programa Gblocks.

3.7 Análisis de las secuencias

En primera instancia, se analizó el fragmento de 530pb, correspondiente a las 60 secuencias de gallinas del Pacífico Colombiano, fue alineada con la secuencia consenso (GenBank accesión N° AB098668) definida por (Komiya *et al.*, 2003).

En segunda instancia, las secuencias colombianas fueron alineadas con 3162 secuencias de 480pb, de gallinas domésticas y red Jungle fowl, reportadas para Europa, Asia, África, Oceanía y América del Sur, utilizadas por Lee *et al.* (2007), Góngora *et al.* (2008a) y Miao *et al.* (2013). Este conjunto de datos está compuesto por 425 haplotipos que definen los haplogrupos A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K.

En tercer lugar, las secuencias colombianas fueron alineadas con 3223 secuencias de 200pb que contiene 358 haplotipos reportados para el sudeste de Asia y el Pacífico por Dancause *et al.* (2011), Sulandari *et al.* (2008), Madagascar Razafindraibe *et al.* (2008) y secuencias provenientes de restos óseos arqueológicos de varios sitios del pacífico (Tailandia, Vanuatu, Niue, Islas Salomón, Hawái y la Isla de Pascua), en América del Sur (Chile, Bolivia, y Perú) y España (Storey *et al.*, 2007; 2010; 2012). También se incluyeron secuencias

usadas por Lee *et al.* (2007), Góngora *et al.* (2008a), Kanginakudru *et al.* (2008) y Miao *et al.* (2013).

3.8 Análisis filogenéticos

Para analizar cada uno de los alineamientos múltiples se usó FaBOX, www.birc.au.dk/fabox y se redujeron en haplotipos únicos con sus respectivas frecuencias. Los archivos que contienen el alineamiento original en formato fasta fueron convertidos en formato rdfa través de DnaSP usando Roehl fileformat. Este formato fue importado a Network 4.6.1.2. para calcular la red de haplotipos para cada uno de los conjuntos de datos. Network 4.6.1.2. permite realizar una configuración predeterminada a través de las opciones de contracción de estrella con un umbral límite de cinco conexiones se usa para datos muy grandes, esto facilita la interpretación de los análisis. En este estudio se utilizó esa configuración para el alineamiento múltiple de los dos conjuntos de datos (200pb y 480pb). Las secuencias colombianas se les representaron en un árbol filogenético mediante MEGA a través del algoritmo Neighbour-joining basado en el modelo de Kimura 2 parámetros; también se construyó una red de haplotipos utilizando Neighbour-joining de Network 4.6.1.2. www.fluxusengineering.com.

3.9 Análisis Estadístico

Las secuencias de ADNmt fueron agrupadas de acuerdo a la comunidad de origen, afros en el departamento de Chocó, campesinas en el Valle del Cauca e indígenas en el departamento de Nariño (Tabla 3). Para el análisis de los parámetros de diversidad genética, índices de fijación y AMOVA se usó el software Arlequín 3.11 (Excoffier *et al.*, 2007) para el análisis de la diversidad nucleotídica y haplotípica se usó DnaSP (Rozas *et al.*, 2003).

4. Resultados

4.1 Diversidad de la región control del ADN de la gallina criolla colombiana

El análisis del fragmento de 530pb de la región hipervariable del ADNmt de 60 secuencias de gallinas criollas del Pacífico Colombiano alineadas con la secuencia consenso (AB098668) mostró 24 sitios polimórficos, de los cuales 91% fueron transiciones y el 9% transversiones, que definieron 13 haplotipos (H1-H13).

El 86.26% de las secuencias pertenecieron al haplogrupo E, con nueve haplotipos (H-1, H-2, H-3, H-4, H-6, H-8, H-9, H-11 y H-13). El haplotipo más representativo fue H2 puesto que en él se incluyeron el 70% de las secuencias colombianas. En menor proporción se encontraron el haplogrupo A (6.66%) representado en los haplotipos H-7 y H-12, el haplogrupo C (5%) con un único haplotipo (H-5) y el haplogrupo B (1.66%) representado en un único haplotipo (H-10) (Tabla 4, Tabla 5, Figura 3, Figura 4).

La Figura 3, muestra el agrupamiento de las secuencias colombianas, 52 de ellas hacen parte de un grupo circular, representan el 87% de la población muestreada y pertenecen al haplogrupo E, mientras que ocho secuencias (13%) se hallaron en menor proporción y hacen parte de los haplogrupos correspondientes A, B, y C. En la Figura 4, se presenta la red de haplotipos generados a partir de 60 secuencias de ADNmt de gallinas criollas del Pacífico Colombiano. Los haplotipos con mayor frecuencia fueron H2, H5 y H7 y hacen referencia a los haplotipos ancestrales.

Tabla 4. Secuencias de la región control del ADNmt, número de haplotipos y haplogrupos observados en 60 gallinas criollas del Pacífico Colombiano. Se presentan las posiciones que difieren con respecto a la secuencia consenso de Japón definida por Komiyama *et al.* (2003). (GenBank accesión N° AB098668).

Haplotipo	167	199	210	212	217	225	227	242	243	246	256	261	281	293	296	310	315	330	342	355	363	367	391	446	Haplogrupo	N	Frecuencias
gAB098668	T	T	C	A	T	C	C	G	T	T	T	C	A	T	T	C	T	C	A	T	C	T	C	C	Haplogrupo	N	%
H1	.	C	.	G	C	.	.	.	C	C	C	T	.	.	C	T	C	T	E	1	1.66	
H2	.	.	.	G	C	.	.	.	C	C	C	T	.	.	C	T	C	T	E	42	70	
H3	.	.	.	G	C	.	T	.	C	C	C	T	.	.	C	T	C	T	E	1	1.66	
H4	.	.	.	G	C	.	.	.	C	C	C	T	.	.	C	T	C	T	T	E	2	3.33	
H6	.	.	.	G	C	.	.	.	C	C	C	T	.	.	C	T	C	A	T	E	1	1.66	
H8	.	.	.	G	C	.	.	.	C	C	C	T	.	.	C	T	C	.	G	.	.	.	T	E	2	3.33	
H9	.	.	.	G	C	.	.	.	C	.	C	T	.	.	C	.	C	T	E	1	1.66	
H11	.	.	.	G	C	.	.	.	C	C	C	T	.	.	C	.	C	T	E	1	1.66	
H13	.	.	.	G	C	.	.	.	C	C	C	T	.	C	C	T	C	T	E	1	1.66	
H5	.	.	.	G	.	.	.	A	C	C	C	.	G	.	C	T	C	.	G	.	T	C	.	C	3	5	
H7	C	.	T	G	.	T	.	.	C	C	.	.	.	C	.	C	A	3	5	
H12	.	.	.	G	.	T	.	.	.	C	C	.	C	.	.	C	.	.	.	A	1	1.66	
H10	C	B	1	1.66	
Total																										60	100

El punto (.) representa el nucleótido idéntico a la secuencia consenso

Tabla 5. Distribución en porcentaje de haplogrupos y haplotipos de acuerdo con la comunidad: afro, indígena y campesina. N: número de secuencias que conforman cada haplotipo, H: haplotipos.

Comunidad	A			B			C			E		
	N	H	%	N	H	%	N	H	%	N	H	%
afro										22	H1, H2, H3	36
campesina	2	H7	3.33				1	H5	1.66	9	H2, H4, H6	15
indígena	2	H7, H12	3.33	1	H10	1.66	2	H5	3.33	21	H2, H4, H8, H9, H10, H13	35
Total	4	3	6.66	1	1	1.66	3	1	5.0	52	9	86.6

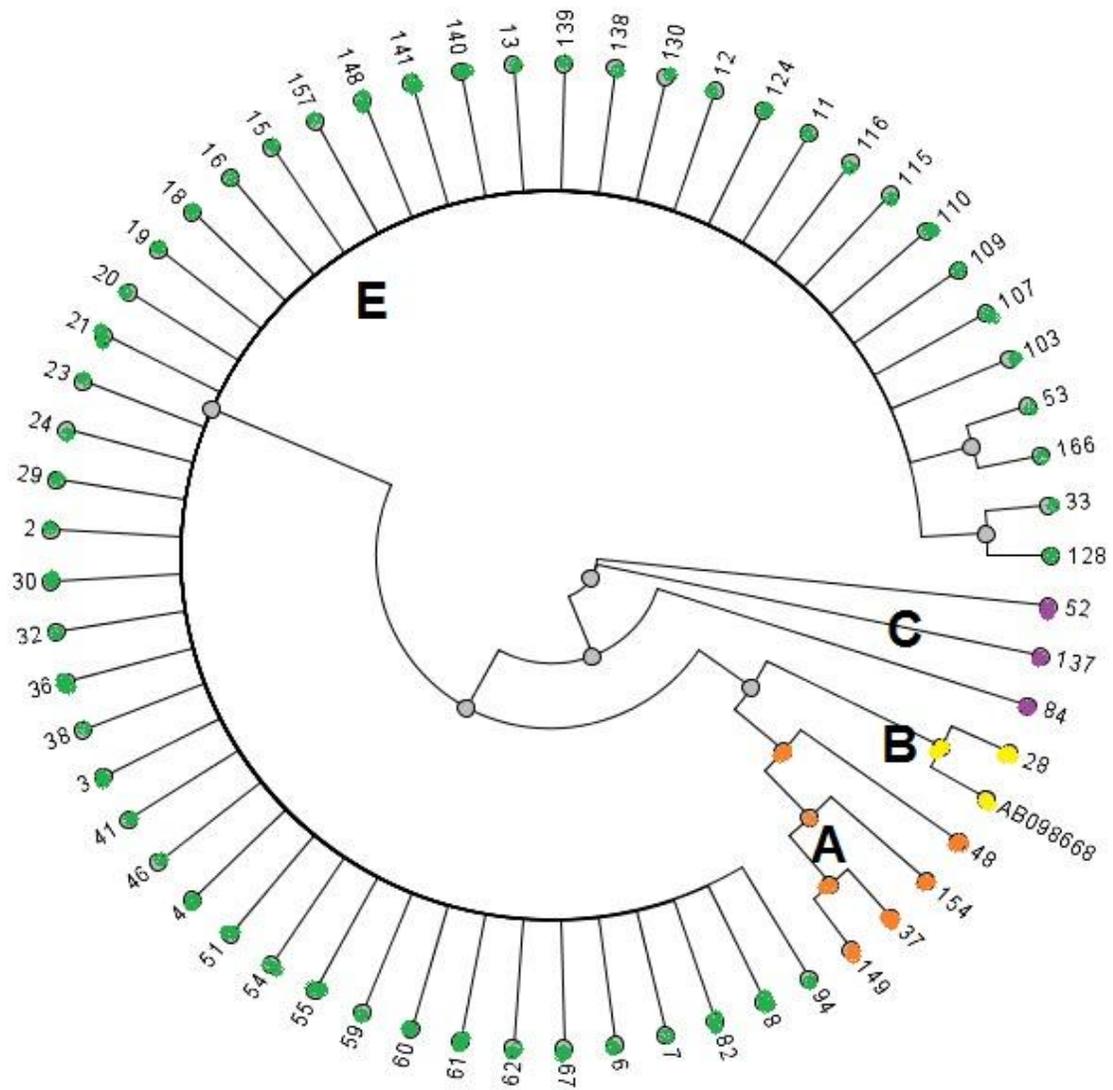


Figura 3. Árbol filogenético de 60 secuencias de gallinas criollas del Pacífico Colombiano construido con Mega a través del algoritmo Neighbour-joining basado en el modelo de Kimura 2 parámetros.

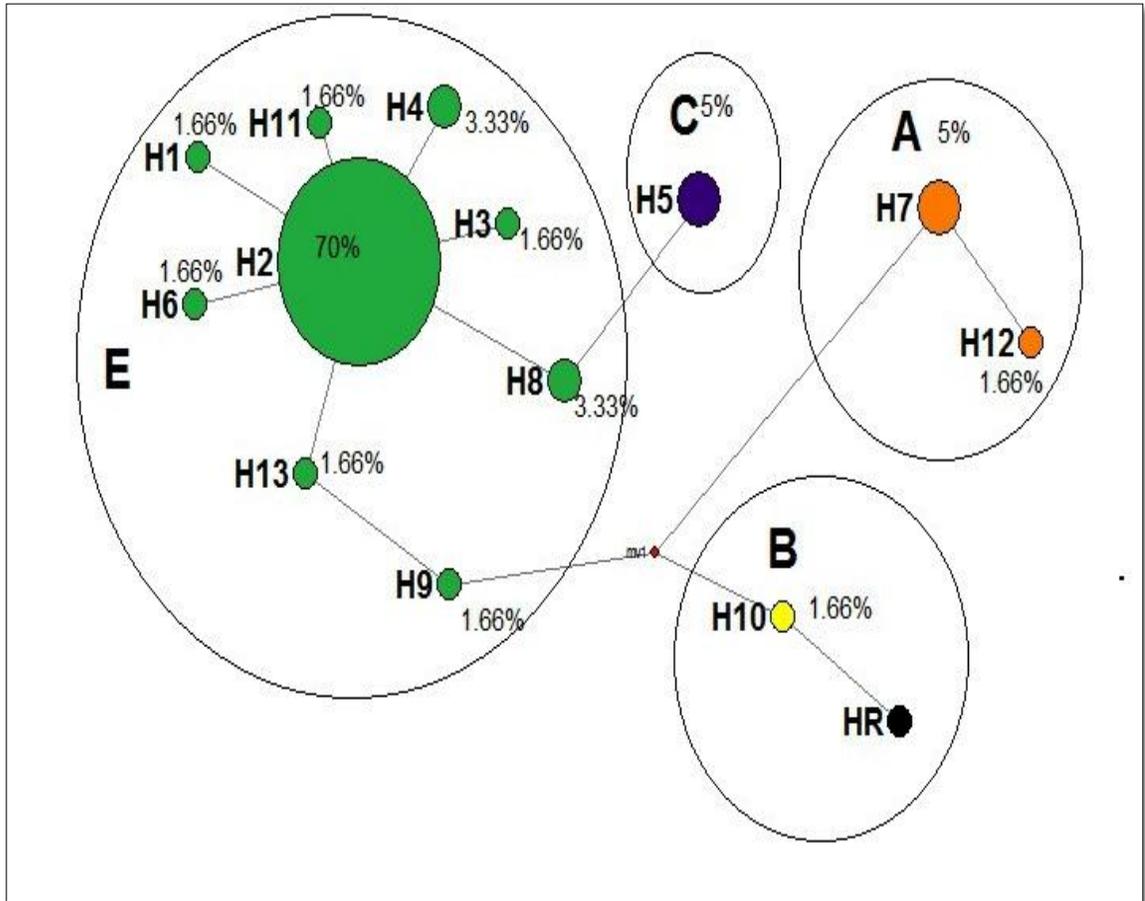


Figura 4. Red de Haplotipos de ADNmt de 60 gallinas criollas construida mediante el método Median joining de Network. Los círculos representan las frecuencias haplotípicas y el área es proporcional a la frecuencia del haplotipo. Las líneas representan el número de eventos mutacionales que separan los haplotipos. El punto rojo muestra haplotipos extintos o no muestreados. Los haplogrupos se representan con colores: E (verde), C (morado), A (naranja), B (amarillo), el color negro representa la secuencia de referencia (HR).

Los diferentes haplotipos encontrados en el Pacífico Colombiano definen cuatro haplogrupos (A, B, C, E). De los nueve haplotipos que definen al haplogrupo E, el haplotipo H2 que es equivalente al haplotipo E1 descrito por Liu *et al.*, (2006), fue común en las tres comunidades muestreadas (indígena, campesina y afros) (Tabla 6, Figura 5). Los haplotipos H1 y H3 sólo se hallaron en la comunidad afro; los haplotipos H8, H9, H11 y H13 en la comunidad indígena y H6 en la comunidad campesina. El haplotipo H9 que define al haplogrupo E lo compartieron las

comunidades campesinas e indígenas. El haplotipo H7 que define al Haplogrupo C estuvo presente tanto en la comunidad indígena como la campesina. El haplotipo H5 que pertenece al haplogrupo A, fue compartido por comunidades indígena y campesina. Sin embargo, el haplotipo H12 que también hace parte del haplogrupo A, sólo se halló en la comunidad indígena. El haplotipo H10 que define al haplogrupo B, solo se encontró presente en la comunidad indígena.

Tabla 6. Distribución geográfica (%) de haplogrupos de acuerdo con la comunidad: Afro, indígena y campesina. N: Número de secuencias que conforman cada haplotipo.

Comunidad	A		B		C		E	
	N	%	N	%	N	%	N	%
afro							22	36
campesina	2	3.33			1	1.66	9	15
indígena	2	3.33	1	1.66	2	3.33	21	35
Total	4	6.66	1	1.66	3	5.0	52	86.6

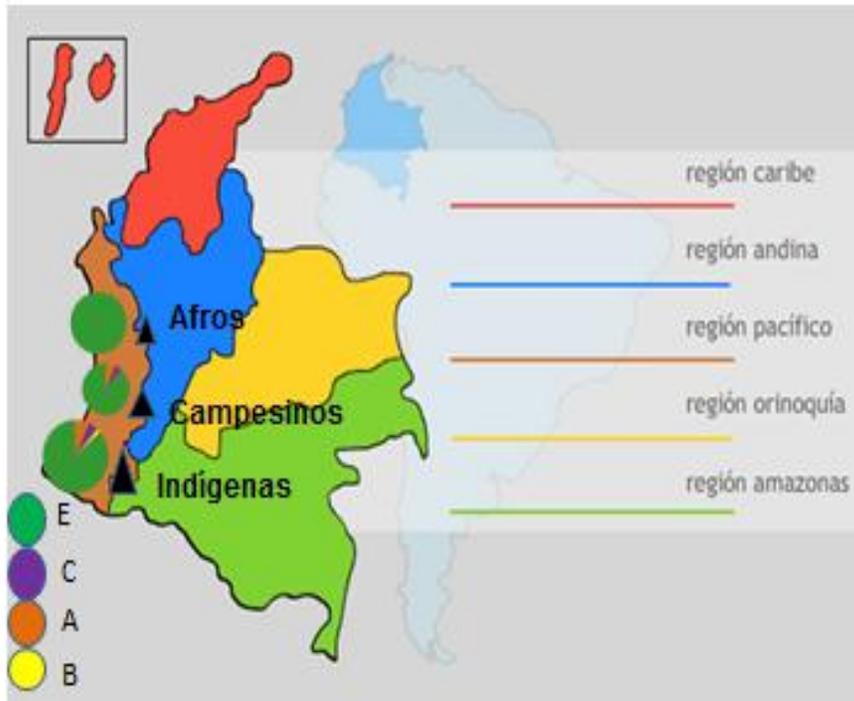


Figura 5. Distribución geográfica de los haplogrupos A, B, C, y E, de acuerdo con la comunidad: afros, indígena y campesina.

4.2. La diversidad genética de la gallina criolla del Pacífico Colombiano

Sólo 4.40% de la variación total, se debió a diferencias entre las gallinas de las tres comunidades, mientras que la mayor variación se encontró dentro de cada población (94.18%). El índice de fijación (F_{ST}) para las tres comunidades no fue significativo ($F_{ST}=0.04397\pm 0.045$)($P>0.07429$), por lo tanto no se detectó estructura genética (Tabla 7).

Tabla 7. Análisis de varianza molecular entre y dentro de poblaciones de gallinas criollas del Pacífico Colombiano.

Fuente de variación	Gl.	Suma	Componentes de varianza	%	F_{ST}
Entre grupos	2	4.584	0.075	4.40	0.043
Dentro de grupos	57	69.499	1.225	94.18	
Total	59	74	1.275		

P-value (0.07429+-0.00700)

Los parámetros de diversidad genética en las tres poblaciones del Pacífico Colombiano, mostraron que la menor diversidad haplotípica fue en afros ($0,177 \pm 0,106$), mientras que en las comunidades campesinas e indígenas fueron similares ($0,671 \pm 0,103$; $0,667 \pm 0,14$, respectivamente). La diversidad nucleotídica (Pi) observada fue similar entre comunidades campesinas e indígenas $0,00801 \pm 0,01007$ (campesinos) $0,00676 \pm 0,00996$ (indígenas) respectivamente. Las comunidades afros fueron las que menor diversidad nucleotídica (Pi) presentaron ($0,00035 \pm 0,00104$).

Tabla 8. El número calculado de sitios variables (S), Diversidad haplotípica (Hd), y Diversidad nucleotídica (Pi), generados a partir de polimorfismos de secuencia de ADNmt en gallinas criollas en tres comunidades del Pacífico Colombiano.

Comunidad	N	S	Diversidad haplotípica (DH)	Diversidad Nucleotídica (Pi)
indígenas	26	20	$0,671 \pm 0,103$	$0,0067 \pm 0,009$
afros	22	2	$0,177 \pm 0,106$	$0,0003 \pm 0,001$
campesinos	12	16	$0,667 \pm 0,141$	$0,0080 \pm 0,010$
Total	60		$0,525 \pm 0,078$	$0,0052 \pm 0,009$

4.3 Relaciones de la gallina criolla del Pacífico Colombiano con gallinas de todo el mundo

Para conocer las relaciones filogenéticas de la gallina criolla del Pacífico Colombiano con gallinas de todo el mundo, a través del análisis de un fragmento de 200pb y con el programa Network 4.6.1.2, usando el método Median Joining, se construyó una red de haplotipos con 3223 secuencias (Figura 6).

Los resultados revelaron que nueve haplotipos (H1, H2, H3, H4, H6, H8, H9, H11 y H13) comparten una agrupación común con el haplogrupo (E1) reportado por (Liu *et al.*, 2006), que tiene una amplia distribución geográfica en Europa, Oriente

Medio, India, América del Sur y China. De esos haplotipos (H2, H4 y H6), que se agruparon en la posición de la red (h48) (Figura 6, Tabla 9), son equivalentes al haplotipo 8CH reportado por (Góngora *et al.*, 2008a) y al h131 (Langford *et al.*, 2013). El H1 ocupó la posición (h47), es equivalente al haplotipo 5CH descrito por (Góngora *et al.*, 2008a), ambos haplotipos hacen parte del sub haplogrupo E1. El haplotipo H8 se agrupó en la posición (h49), H3 en (118), H9 y H13 en la posición de la red de haplotipos (189) y tienen una equivalencia con los haplotipos h133, h132, h140 reportados por Langford *et al.* (2013) y también hacen parte del sub haplogrupo E1. El haplotipo H11, al parecer es propio para Colombia porque no se agrupó con ninguno de los haplotipos ya reportados, pero se incluyó en el haplogrupo E (Figura 6).

El haplotipo H-7 se agrupó en la posición (h4) y hace parte del haplogrupo A, es equivalente al haplotipo A02 descrito por (Miao *et al.*, 2013) y (Liu, *et al.*, 2006). El haplogrupo A tiene una distribución geográfica en Asia Oriental. El haplotipo H10, en la red de haplotipos ocupó la posición (h21) y es equivalente al haplotipo B1 (Liu *et al.*, 2006), que se encuentra distribuido principalmente en el Sur y el este de China (Figura 6, Tabla 9).

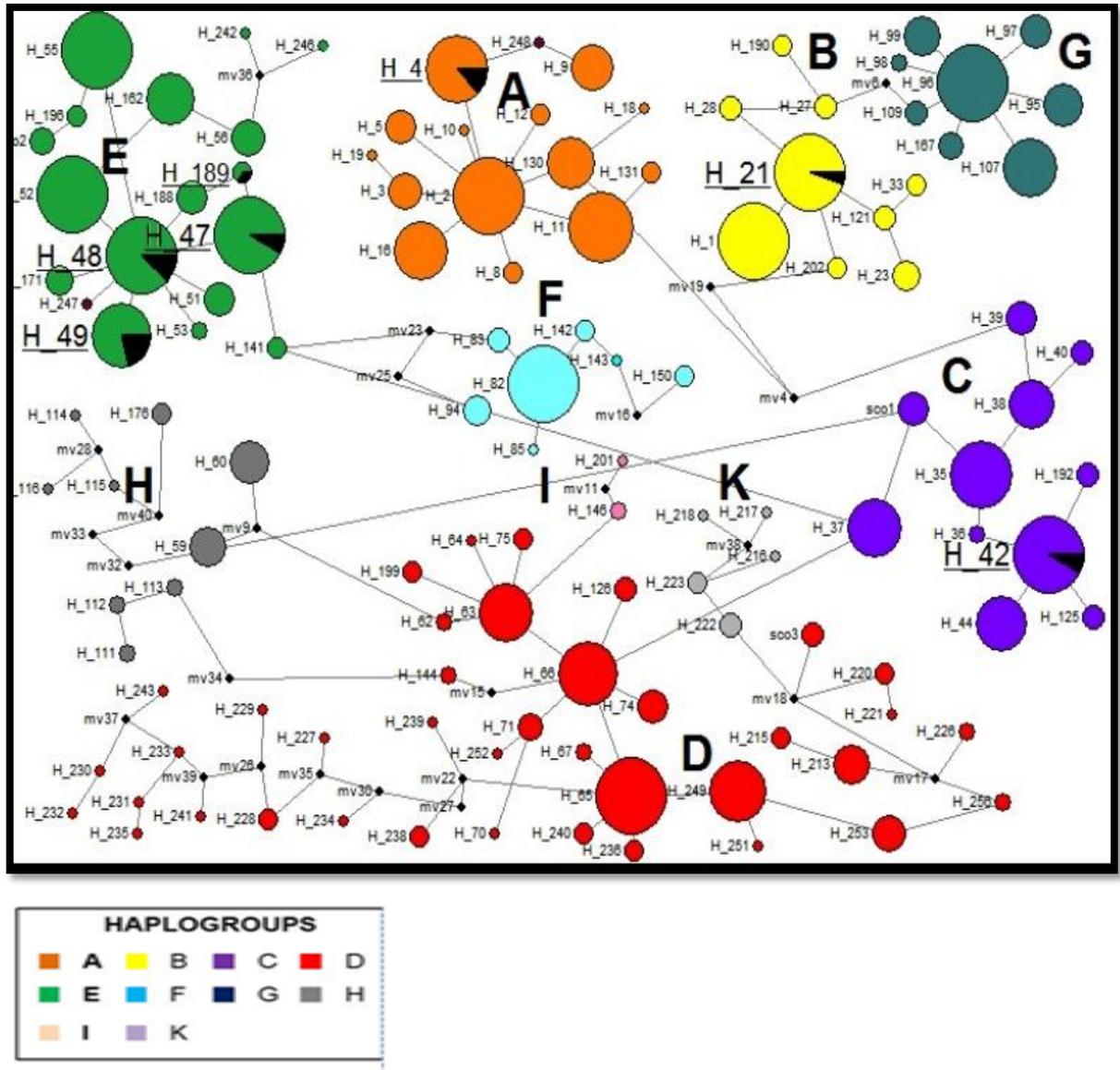


Figura 6. Red de Haplotipos construida mediante el método Median joining de Networks de 60 secuencias colombianas (color negro) comparadas con 3223 secuencias de ADNmt de 200pb que definen los haplogrupos (A-k) definidos por Liu *et al.* (2006).

Tabla 9. Correspondencia entre haplotipos y haplogrupos reportado por (Miao *et al.*, 2013) con los obtenidos en el presente estudio, número de secuencias con las cuales se agruparon las secuencias colombianas de acuerdo a la red de haplotipos de ADNmt mediante Networks por el método de Median joining de 200pb.

Haplogrupo	Haplotipos Reportados (Miao <i>et al.</i> , 2013)	Ubicación de haplotipos Presente estudio	Haplotipos Presente estudio	N° de secuencias	Origen y distribución geográfica de haplogrupos
A	A02	h4	H7	31	Asia Oriental (suroeste de China) Sur y el este de China
B	B1	h21	H10	572	Asia Oriental (Corea) Sur y el este de China
C1	C01	h42	H5	144	Asia Oriental (suroeste de China) suroeste de China y Japón
E1	E06	h47	H1	68	Asia Oriental (suroeste de China) (Europa, Oriente medio la India América del Sur)
E1	E01	h48	H2, H4, H6	447	Asia Oriental (suroeste de China) (Europa, Oriente medio la India América del Sur)
E1	E09	h49	H8	27	Asia Oriental (suroeste de China) (Europa, Oriente medio la India América del Sur)
E1	E01	h118	H3	4	Asia del Sur (noreste de la India) (Europa, Oriente medio la India América del Sur)
E1	E35	h189	H9, H13	7	Asia Oriental (Sur Central de China) (Europa, Oriente medio la India América del Sur)
E	-	h247	H11**	1	Colombia (Pacífico Colombiano)
A	-	h248	H12**	1	Colombia (Pacífico Colombiano)

El H5 ocupó la posición (h42) (Figura 6, Tabla 9), es equivalente al haplogrupo C1 descrito por (Liu *et al.* 2006), se caracteriza por tener una distribución geográfica en el Sur y el este de China, es común en gallinas domésticas, red Jungle fowl y gallinas de Japón.

El haplotipo H12 al parecer es un haplotipo único para Colombia, porque no se agrupó con ninguno de los haplotipos ya reportados, sin embargo, cae dentro del haplogrupo A y pertenece únicamente a la comunidad indígena ubicada en el departamento de Nariño.

En la Tabla 9, se muestra el agrupamiento de los haplotipos encontrados en el Pacífico Colombiano con los haplotipos definidos por 3223 secuencias de 200pb ya reportados en otros estudios Góngora *et al.*, 2008a; Kanginakudru *et al.*, 2008; Miao *et al.*, 2013; Dancause *et al.*, 2011; Sulandari *et al.*, 2008; Razafindraibe *et al.*, 2008; Storey *et al.*, 2007; 2010; 2012. Para la clasificación e identificación de estos haplotipos se utilizó FaBOX y se redujeron en haplotipos únicos con sus respectivas frecuencias. Los haplotipos H11** y H12** se encontraron únicamente en la comunidad indígena en el departamento de Nariño, al parecer son únicos para Colombia, porque no se agruparon con ninguno de los haplotipos reportados, aunque si incluyen dentro de los haplogrupos E (H11) y A (H12).

En la Figura 7, adaptada de Langford *et al.* (2013) se observa la distribución geográfica de los haplogrupos A, B, C y E y hace referencia a los linajes maternos encontrados en Colombia, estos se representaron en el triángulo de color negro. Se confirmó la proximidad de las gallinas criollas de Colombia con gallinas de Europa, Oriente medio, India, América del Sur, China y Japón. No se encontraron linajes correspondientes a los haplogrupos (D, F, G, K, H, I y k).

La Figura 8, muestra la red de haplotipos construida a partir del alineamiento múltiple con secuencias colombianas y 3162 secuencias de 480 pb de gallinas domésticas y red Jungle fowl reportadas para Europa, Asia, África, Oceanía y América del Sur. Los resultados revelaron diez haplogrupos (A - K). Los

haplotipos colombianos (color negro) se agruparon con los haplogrupos principales (A, B, C, y E). Esta agrupación fue similar a la obtenida a la red de haplotipos construida con 3223 secuencias de 200pb de todo el mundo (Figura 6). La diferencia para estas dos figuras radica en la longitud de la secuencia, para este caso fue de 480pb y no contiene información de las secuencias prehistóricas reportadas por Storey *et al.*, (2007; 2010; 2012), y Dancause *et al.* (2011). Por lo tanto para el análisis de interés en este estudio solo se usó el primer conjunto de datos 3223 secuencias de 200pb.

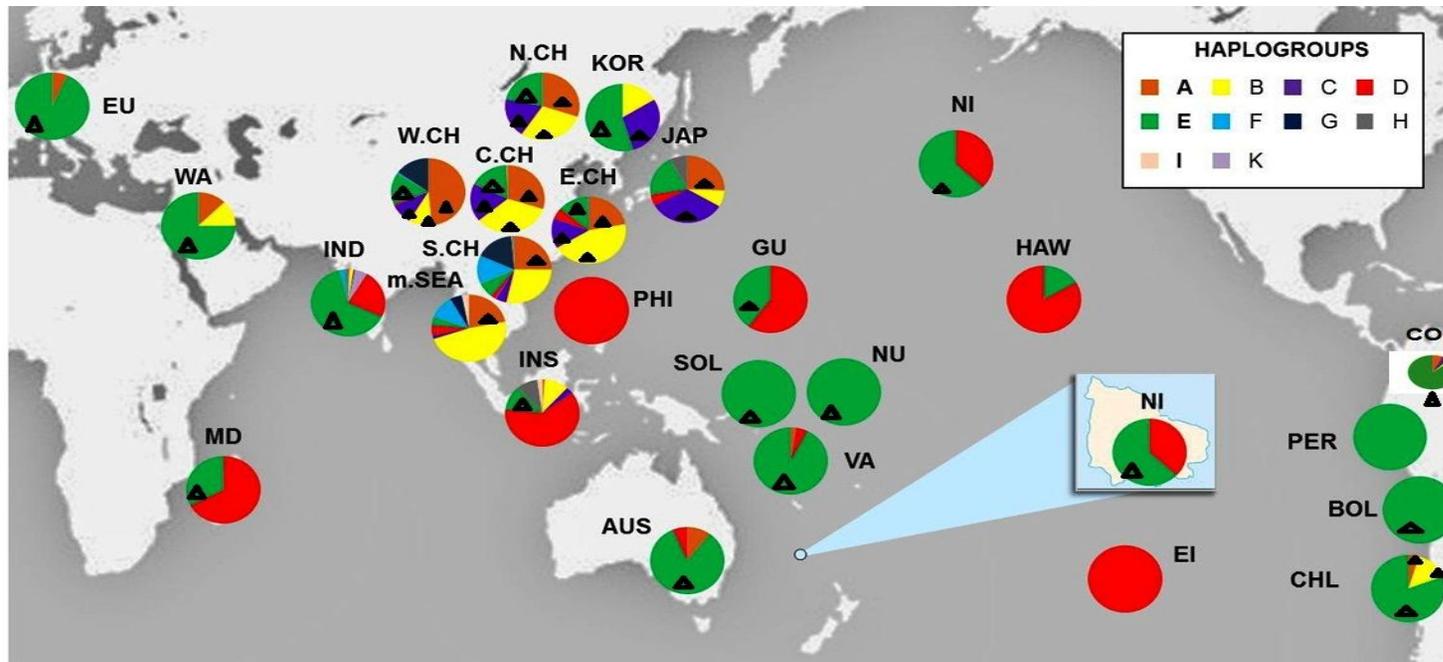


Figura 7. Distribución geográfica de haplogrupos generados a partir de 3223 secuencias DNAmT de 200pb y las relaciones con los haplogrupos hallados en el Pacífico Colombiano COL, Colombia-60; AUS, Australia-48; BOL, Bolivia-2; CH, China (C.CH, China Central -415; E.CH, China Oriental -172; N.CH, China del Norte -108; S.CH, China del Sur -1076; W. CH, China occidental -239); CHL, Chile-42; EI, Isla de Pascua -2; EU, Europa -60; GU, Guam-5; HAW, Hawaii-7; IND, India-329; INS, Indonesia-94; JAP, Japon-152; KOR, Korea-31; MD, Madagascar-11; NI, islas Norfolk 27; NU, Niue-1; PER, Peru-1 ; PHI, Philipinas-1; SEA , Asia Oriental. (Laos, Malasia, Maymar, Tailandia, y Vietnam)-292; SOL, Islas Salomon-3; VA, Vanuatu-41; WA, Asia Occidental -16 (Langford *et al.*, 2013).

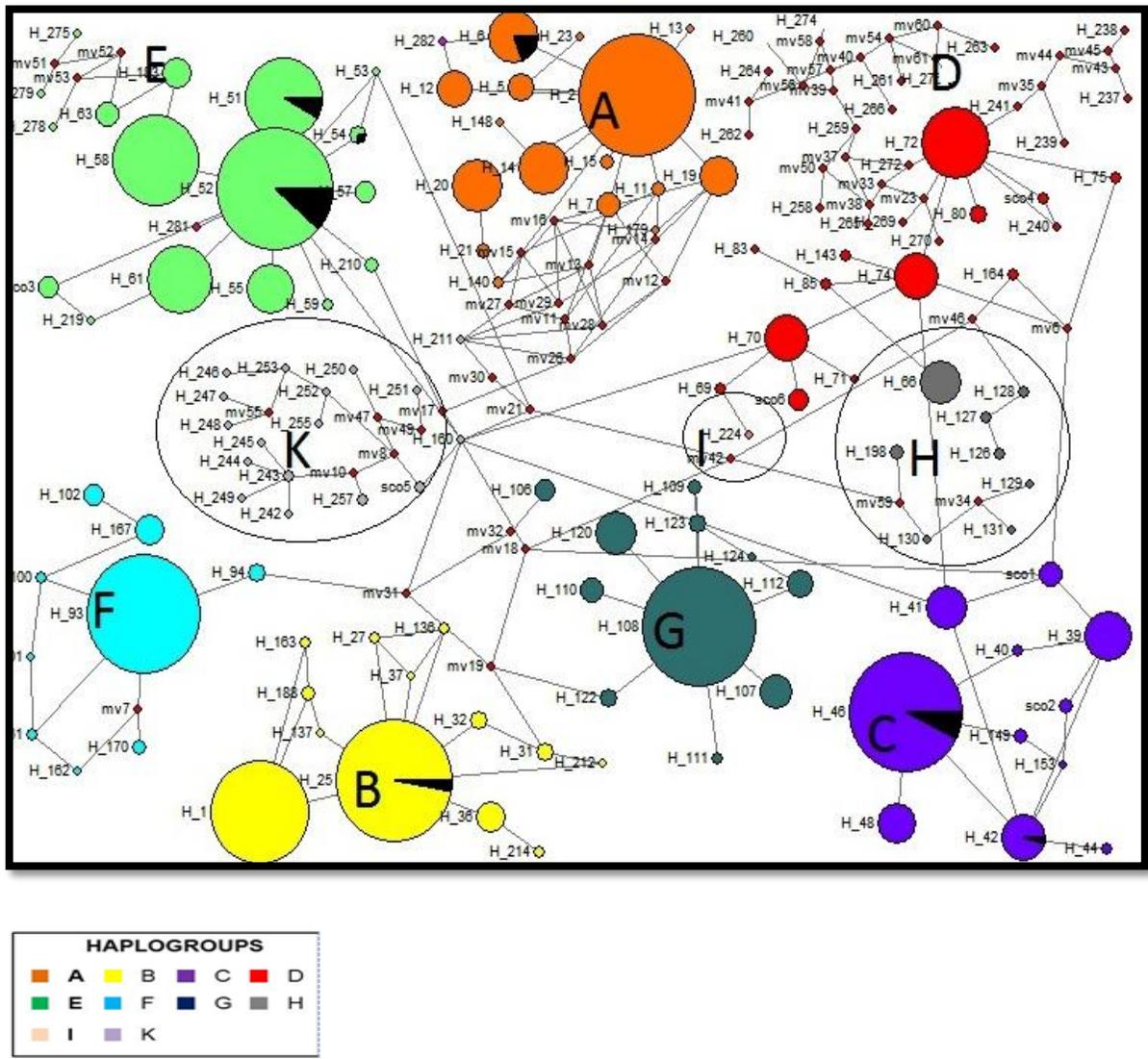


Figura 8. Red de Haplotipos construida mediante el método Median joining de Networks a partir de un segmento de 480pb de ADNmt. Los nodos están coloreados de acuerdo al haplogrupo, los haplotipos colombianos están representados de color negro.

5. Discusión

5.1 La diversidad genética de la gallina criolla del Pacífico Colombiano

La presencia de la gallina en América del Sur ha estado sujeta a continuos debates entre la comunidad científica, a consecuencia del planteamiento de dos hipótesis: La hipótesis más común y reportada en los libros de avicultura, es que la gallina doméstica fue introducida a América por los españoles y/o portugueses; las primeras introducciones posiblemente se realizaron en la costa este de Sur América, alrededor del año 1500, (Nordenskiöld, 1922; Seligmann, 1987). La segunda hipótesis sugiere un origen precolombino que tiene como punto de partida la isla de Pascua en el océano Pacífico, a 3700 km de la costa chilena, (Burland 1967).

Según Valencia *et al.* (1990) no existen documentos de historia escrita de gallinas en América del Sur tampoco para Colombia, pero existen estudios parciales de cronistas de Indias y misioneros que permiten reconstruir la historia. La historia de la avicultura en Colombia está bien documentada sólo a partir de 1950, pero hace referencia únicamente a avicultura comercial.

Molina (2002) describió la evolución cronológica de avicultura comercial en Colombia desde la Colonia hasta el siglo XIX, los inicios de avicultura comercial desde 1910 y las primeras importaciones de líneas puras en la década de 1920. Es probable que antes de la introducción de líneas comerciales en el siglo pasado, las gallinas introducidas por los españoles se hayan mantenido puras, luego se cruzaron con gallinas domésticas introducidas en esas fechas. Sin embargo, los avicultores rurales en el traspatio de sus casas aún conservan algunas gallinas descendientes de las introducidas por los españoles en la época de la Colonia.

La primera granja avícola en Palmira se creó en 1940, año que coincidió con nuevas importaciones de aves, equipos drogas y alimentos balanceados, la primera raza fue la Rhode Island Red. Mientras se tecnificaban las condiciones para desarrollar avicultura industrial, subsistía la avicultura campesina con gallinas criollas. Según Valencia *et al.* (2008) las razas introducidas desde finales del siglo XIX y comienzos del siglo XX fueron; Plymouth Rock, Rhode Island, New Hampshire, Minorca, Leghorn, Ancona y Sussex entre otras. A principios del siglo XX se recomendaba la selección de razas para desarrollar exitosamente una avicultura industrial, pero también el descarte de las aves mestizas por tener elementos de varias razas tales como “cloquera” y baja producción.

El auge de la avicultura en Colombia surge a partir de los años 40 y 60, con la tecnificación de la avicultura en confinamiento, las primeras incursiones en el pollo de engorde y la adopción de planes preventivos de vacunación. En los años 70, en Colombia ya existían los cuatro componentes o actividades principales que demanda la avicultura: la incubación, pollo de engorde, aves de postura y la industria de alimentos balanceados. La gallina criolla en ese entonces era despreciada por su baja producción, en comparación con líneas comerciales (Molina, 2002).

En este trabajo de investigación, se presenta el primer estudio de la diversidad genética de la gallina criolla del Pacífico Colombiano a través del ADNmt, por lo tanto no hay referentes de comparación, aunque se han adelantado estudios de diversidad genética empleando otras técnicas moleculares que han permitido dilucidar la diversidad genética de las gallinas criollas en Colombia (Revelo *et al.*, 2011; Palacios *et al.*, 2013).

De acuerdo con los resultados obtenidos, fue posible verificar la existencia de un pool altamente diverso en la región hipervariable del ADNmt en las gallinas criollas del Pacífico Colombiano, debido a que 24 sitios polimórficos definieron 13

haplotipos y estos a su vez se agruparon con los linajes maternos A, B, C y E, que fueron reportados en estudios previos por Liu *et al.* (2006).

Cabe resaltar que el haplotipo H2 fue el de mayor frecuencia (70%) y es equivalente a los haplotipos E1 (Liu *et al.* 2006), al 8-CH (Góngora *et al.*, 2008a), el haplotipo E01 (Miao *et al.*, 2013) y al h131 (Langford *et al.*, 2013). El haplotipo H2 fue común para las tres comunidades del Pacífico Colombiano y es probable que se encuentre distribuido por todo el país. De los 13 haplotipos encontrados, al parecer dos haplotipos (H11 y H12), que hacen parte los haplogrupos E y A, son propios de Colombia porque no tienen equivalentes o no han sido reportados en la literatura. Estos haplotipos sólo se hallaron en la comunidad indígena y pueden ser el producto de una mutación originada después de la introducción europea.

La mayoría de los haplotipos que definen los haplogrupos E, A, C y B se encontraron en la comunidad indígena, por lo tanto fue la más diversa a nivel mitocondrial, probablemente debido a su ubicación fronteriza con el Ecuador donde el intercambio de gallinas y huevos fértiles entre las comunidades indígenas es eventual. La comunidad campesina y la indígena comparten los haplogrupos A (6.66%) y C (5%); según Liu *et al.* (2006) ambos haplogrupos tienen orígenes principalmente en el Sur de China y Japón. En la comunidad afrocolombiana, prevaleció el linaje ancestral E con un 100%; esta región se encuentra aislada geográficamente del resto del país, además las condiciones agrestes que presenta la región han impedido el desarrollo de la avicultura industrial, por lo tanto el cruzamiento con estas aves es mínimo y ha permitido mantener el linaje materno del haplogrupo E de origen Europeo. Al parecer, en esta región es posible encontrar gallinas criollas con menos introducción de líneas comerciales, por lo tanto pueden ser utilizadas para futuros programas de conservación y fomento.

Sólo 4.4% de la variación total se debió a diferencias entre poblaciones, mientras que la mayor variación se encontró dentro de cada población (94.18%). El índice de fijación para las tres comunidades no fue significativo ($F_{ST}=0.043\pm 0.04$),

($P > 0.07$), por lo tanto, no se detectó estructura genética, posiblemente se deba a que los avicultores no han seleccionado para ninguna característica o tipo en particular. En las mismas comunidades, con microsatélites RAMs Revelo *et al.* (2011) y con un panel de 15 microsatélites específicos, Palacios *et al.* (2013), tampoco detectaron estructura genéticas en estas gallinas. Por otro lado, Revelo y Valenzuela, (2014) a través del estudio de rasgos morfológicos en gallinas criollas del Pacífico Colombiano, encontraron una mezcla de biotipos distribuidos en el traspatio de los avicultores rurales, no se encontraron razas específicas en particular.

La diversidad haplotípica promedio en las tres comunidades fue: $0,525 \pm 0,006$ y la nucleotídica (P_i) de $0,00523 \pm 0,00975$ estos valores muestran que las gallinas del Pacífico Colombiano son altamente diversas a nivel mitocondrial. Muchadeyi *et al.* (2008) en gallinas nativas en Zimbabwe reportó una diversidad haplotípica de 0.29 ± 0.78 . Otros autores han hallado una mayor diversidad en gallinas nativas de Vietnam (Cuc *et al.*, 2011) y Corea (Hoque *et al.*, 2013), lo cual es explicable por estar presentes en sus centros de origen y domesticación (Sur de China, Asia del Sur).

Por otro lado, Grimal *et al.* (2011) reportaron valores de diversidad nucleotídica (P_i) en gallina Valenciana de Chulilla y en la Pita Pinta Asturiana, (0,0082), valor similar al obtenido por Liu *et al.* (2006), con (P_i) de 0,0018 a 0,0109 y concuerdan con los resultados encontrados en gallinas criollas del Pacífico Colombiano ($0,00523 \pm 0,00975$).

5.2 La gallina criolla colombiana y las relaciones con gallinas de todo el mundo

Se sabe que las gallinas domésticas hoy existentes en el mundo se originaron a partir de poblaciones silvestres del red Jungle Fowl (*Gallus gallus gallus*) en el sudoeste asiático (Fumihito *et al.*, 1994). Múltiples eventos de domesticación

independientes en el Sur de China, Asia del Sur y sudeste de Asia implican al menos cinco subespecies como posibles progenitores: *G. g. gallus* en Tailandia, *G. g. spadiceus* en Birmania y la provincia de Yunan en China, *G. g. jabouillei* en el Sur de China y Vietnam, *G. g. murghi* en la India y *G. g. bankiva* en la Isla de Java. Sin embargo, todavía no está claro cuántas subespecies han contribuido al origen de las gallinas domésticas (Liu *et al.*, 2006; Grimal *et al.*, 2011).

Algunas investigaciones se han centrado en la reconstrucción de la historia matrilineal de las gallinas domésticas a partir de datos de secuencias de ADNmt (Miao *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2007; Góngora *et al.*, 2008a; Thomson *et al.*, 2014; Dancause *et al.*, 2011; Sulandari *et al.*, 2008; Razafindraibe *et al.*, 2008; Storey *et al.*, 2007; 2010; 2012), cuyos resultados han generado más de 425 haplotipos que definen alrededor de diez haplogrupos (A-K). En el presente estudio se encontraron 13 haplotipos y se agruparon con los haplogrupos A, B, C, y E.

Según Miao *et al.* (2013), se han identificado linajes de haplogrupos y sub haplogrupos comunes tales como: A, B, D1, E1, E3, F y G, y tienen la particularidad de encontrarse presentes tanto en gallinas domésticas así como en red Jungle Fowl, este fenómeno posiblemente se deba a que la diferenciación de cada uno de los haplogrupos en sub haplogrupos pudo originarse antes de la domesticación. Con respecto a las relaciones filogenéticas con gallinas de todo el mundo, se encontró que 86.6% (52/60) de las secuencias colombianas hacen parte del haplogrupo E, también definido como sub haplogrupo E1 por (Miao *et al.*, 2013), lo que indica que parte de las gallinas del Pacífico Colombiano están estrechamente relacionadas con gallinas de Europa, Oriente Medio, India, Oceanía, América del Sur y gallinas domésticas de China. Resultados similares fueron reportados por Góngora *et al.*, (2008a) en gallinas araucanas de Chile, en donde encontró 91% correspondiente al haplogrupo (E). Por el contrario Herkenhoff (2013), en gallinas caipiras de huevos azules de Brasil, reportó 2,86% correspondiente al haplogrupo E. Por otro lado Pagani (2011), en dos linajes de

aves caipiras brasileras, Aves de Paraíso (PP) que son el resultado de cruzar gallinas de carne con gallinas caipiras y Aves caipira Negra Carmesí (NC), que es la mezcla de gallinas productoras de huevos con gallinas caipiras, reportó para linaje PP un 100% del linaje E, mientras que el linaje de gallinas caipiras (NC) o negras carmesí estuvo compuesta por dos linajes, 60% de origen europeo y 40% de origen asiático.

El haplogrupo A estuvo presente en las gallinas criollas colombianas en 6.66%, este linaje está estrechamente relacionado con gallinas del Sur y el este de China. Herkenhoff (2013) reportó en gallinas caipiras de huevos azules 89,52% de haplogrupo A, lo que sugiere que tienen un linaje ancestral de Asia, mientras que en Colombia se encontró un linaje ancestral correspondiente al haplogrupo E de origen europeo, es probable suponer que la diferencia de estos linajes esté relacionado con la colonización diferente que tuvieron Colombia y Brasil.

Los linajes maternos de gallinas colombianas contienen 5% del haplogrupo C. Este linaje está relacionado con gallinas de Sur de China y el Suroeste del Japón, con un subgrupo de gallinas nativas japoneses del Sur de Okinawa y guardan también una estrecha relación con gallinas nativas de Indonesia y red Jungle fowl (Okaet *al.*, 2007).

El hallazgo de una secuencia única del haplotipo H10 equivalente al haplotipo B1, indican que tienen una baja proporción de este haplotipo que se encuentra distribuido principalmente en el Sur y el este de China, al parecer se originó en el sudoeste de Asia y el subcontinente Indio. Según Muchadeyi *et al.* (2008) el sub haplogrupo B1 está asociado con líneas comerciales para producción de huevos blancos y marrones, mientras que el sub haplogrupo B2 es exclusivo para los pollos Broilers. Según Oka *et al.* (2007) el haplogrupo B se encuentra formado por los gallos de pelea (Shamo), las líneas comerciales (Rhode Island Red) y (White Leghorn). Bajo este contexto, es probable que la presencia del haplotipo H10 que define el haplogrupo B hallado en comunidades indígenas del Pacífico Colombiano

sea un indicador de introgresión con gallinas comerciales para la producción de huevos. Es posible suponer que gallinas de líneas comerciales productoras de huevo hayan llegado a esta región del país con programas gubernamentales para inclusión social y de seguridad alimentaria dirigida a comunidades vulnerables y desplazadas. Aunque estos programas han fracasado, algunas de estas gallinas comerciales sobrevivieron, se adaptaron y posteriormente se mezclaron con gallinas criollas. La proporción de haplogrupos (A, B y C), hallada en el Pacífico Colombiano (13.33%), pueden ser el resultado de una introducción de genes modernos de ADNmt desde Asia, a través de líneas comerciales.

Finalmente, en este estudio no se encontró relación alguna con secuencias provenientes de fósiles prehistóricos de las islas de Pascua y Polinesia. Según Thomson *et al.* (2014), la alta frecuencias del haplogrupo E encontrado en los fósiles arcaicos de los archipiélagos de Polinesia fue ocasionada por contaminación con ADN de gallinas modernas, por lo tanto, pudo haber afectado negativamente los resultados obtenidos por Storey *et al.* (2007; 2012), quien manifestó haber encontrado linajes E1 y E6 en fósiles arcaicos encontrados en los diferentes archipiélagos de Polinesia. Contrario a lo que encontró Thomson *et al.* (2014), en las muestras arcaicas y una alta proporción de las gallinas modernas de Polinesia revelaron un haplogrupo único que hacen parte del haplogrupo D y sólo se encuentra en el Pacífico. Al parecer representa los auténticos linajes fundadores de las gallinas modernas del Pacífico que aún se encuentran en altas frecuencias.

6. Conclusiones

En este estudio se proporcionó la primera evaluación genética de las gallinas criollas del Pacífico Colombiano a nivel de ADNmt. Se encontró la existencia de un pool altamente diverso en región hipervariable del ADNmt en las gallinas criollas que están distribuidas en las comunidades rurales.

Cuatro linajes maternos correspondientes a E, A, C y B; fueron identificados en las gallinas criollas existentes en la actualidad. El haplogrupo E fue el de mayor frecuencia y es común para las tres comunidades estudiadas. Es probable que esta distribución indique un origen europeo, dado que los documentos históricos muestran que los españoles la introdujeron desde época de la Colonia y aún están conservados especialmente en la comunidad afrocolombiana.

En menor proporción se hallaron tres linajes maternos de origen Asiático, correspondientes a los haplogrupos A, B y C, los cuales probablemente llegaron al Pacífico Colombiano con la introducción de líneas comerciales introducidas desde finales del siglo XIX y comienzos del siglo XX, época del auge de la avicultura industrial.

El haplogrupo B parece ser un buen indicador de la introgresión de líneas comerciales, puesto que algunos estudios previos encontraron que está asociado con líneas comerciales para la producción de huevos, y los gallos de pelea.

Para futuros programas de conservación y fomento de gallinas criollas colombianas, se recomienda seleccionar ejemplares conservados por comunidades afrocolombianas en el departamento de Chocó, también en algunas comunidades indígenas de la selva amazónica.

Bibliografía

Adebambo, A.O. 2009. ADNmt the Chicken Diversity Consortium Mitochondrial Dna D-Loop Analysis Of South Western Nigerian Chicken. *Arch. Zootechnia*. 58 (224): 637-643.

Álvarez, M. 2000. Producción tradicional de aves y cerdos en el Pacífico Colombiano. Medellín: Fundación Espave, P. 25. 2000.

Anderson, S.; Bruijin, M.H.L.; Coulson, A.R.; Eperon, I.C.; Sanger, F.; Young, I.G. 1982. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA. Conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *J. Mol. Biol.* 156: 683-717.

Avise, J.C. 2000. Phylogeography. The history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, United Kingdom. 447 pp.

Bandet, H.J.; Forster, P.; Rohl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.*, v.16, n.1, p. 37-48.

Boichard, M.; Bed'hom, B.; Rognon, X. 2011. Chicken domestication: From archaeology to genomics. *Comptes Rendus Biologies*, 334, 197–204.

Brown, W.M. 1985. The mitochondrial genome of animals. En: MacIntyre R.J (ed) *Molecular evolutionary genetics*. Plenum, New York, USA.95-130.

Bruford, M.W.; Bradley, D.G.; Luikart, G. 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nat. Rev. Genet.* V.4, n.11, p 900-910.

Burland C. 1967. La Vida en los Pueblos Primitivos. Biblioteca de Conocimientos Modernos-Salvat. Salvat S.A., p. 145-152.

Castello S. 1921. Type of an Anurophygidious (Rumpless) cock and hen breed with earrings in Chile. In Proceedings of the First World Poultry Congress. 59. London.

Crawford, R.D. 1990. Origin and History of Poultry Species. *Poultry Genetics and Breeding*. New York: Elsevier. 1–8.

Cuc, N.T.; Simianer, H.; Groeneveld, L.F.; Weigend, S. 2011. Multiple maternal lineages of vietnamese local chickens inferred by mitochondrial D-loop sequences. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24:155-161.

Dancause, K.N.; Vilar, M.G.; Steffy, R.; Lum, J.K. 2011. Characterizing Genetic Diversity of Contemporary Pacific Chickens Using Mitochondrial DNA analyses. *PLoS ONE* 6 (2): e 16843. doi:10.1371/journal.pone.0016843.

Desjardins, P. y Morais, R. 1990. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome: a novel gene order in higher vertebrates. *J. Mol. Biol.* 212: 599-634.

Dürigen B. 1931. Tratado de Avicultura. Especies y Razas. Editor Gustavo Gili. Barcelona- España. Tomol. p 24. *Ecology* 7:1441-1455.

Excoffier, L. 2007. Arlequínver 3.11 Computational and molecular population genetic lab. CMPL. University of Berne <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>

FAO.2010. Chicken genetic resources used in smallholder production systems and opportunities for their development, by P. Sørensen. FAO Smallholder Poultry Production Paper No. 5. Rome.162p.

FAO.2010. Draft Guidelines on Phenotypic Characterization CGRFA/WG-AnGR-6/10/info. Rome,24-26 November.

Fumihito, A.; Miyake, T.; Sumi, S.; Takada, M.; Ohno, S.; Kondo, N. 1994. One subspecies of the red junglefowl (*Gallus gallus gallus*) suffices as the matriarchic ancestor of all domestic breeds. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 12505–12509.

Fumihito, A.; Miyake, T.; Takada, M.; Shingu, R.; Endo, T.; Gojobori, T. *et al.* 1996. Monophyletic origin and unique dispersal patterns of domestic fowls. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:6792–6795.

Góngora, J.; Rawlence, N.; Mobegi, V.; Jianlin, H.; Alcalde, J.; Mateus, J.; Hanotte, O.; Moran, C.; Austin, J.J.; Ulm, S.; Anderson, A.J.; Larson, G.; Cooper, A. 2008a. Indo-European and Asian origins for Chilean and Pacific Chickens revealed by mtDNA. *Proceedings, Natl Acad Sci*, 105, 10308 – 10313 .doi: 0.1073 /pnas. 0801991105.

Gongora, J.; Rawlence, N.J.; Mobegi, V.A.; Jianlin, H.; Alcalde, J.A.; Matus, J.T.; Hanotte, O.; Moran, C.; Austin, J.J.; Ulm, S.; Anderson, A.J.; Larson, G.; Cooper, A. 2008b. Indo-European and Asian origins for Chilean and Pacific chickens revealed.

Grimal, A.; Viudes de Castro, M.P.; E.A. Gómez, E.A.; Goyache, F.; Royo, L.J. 2011. Posible origen materno común de dos poblaciones de gallinas: resultados preliminares del análisis del ADN mitocondrial. *Congr. AIDA on Animal Production, Zaragoza, Spain. pp 482-484 in Proc. 14th Nat.*

Hehn, V. 1888. *The wanderings of plants and animals from their first home.* London: Swan Sonnenschein.

Herkenhoff, M.R. 2013 Variabilidade genética da região controladora do ADNmt (ALÇA-D) de galinhas caipiras brasileiras Universidad de do estado de santa Catarina centro de ciencias agroveterinárias – CAV mestrado em ciência animal 47p.

Hoque, M.R.; Choi, N.R.; Sultana, H.; Kang, B.S.; Heo, K.N.; Hong, S.K.; Jo, C.; Lee, J.H. 2013. Phylogenetic analysis of a privately-owned Korean native chicken population using mtDNA d-loop variations. *Asian-Aust J Anim Sci.* 2013;26:157–162.

Kimura, M .A. 1980. Simple método para estimar la evolución de los tipos de base de sustituciones a través de estudios comparativos de las secuencias de nucleótidos. *Journal of Molecular Evolution*. 16 (2):111-120.

Komiyama, T.; Ikeo, K.; Gojobori, T. 2003. Where is the origin of the Japanese gamecocks? *Gene* 317, 195–202.

Langford, S.M.; Kraitsek, S.; Baskerville, B.; Ho, S.; Gongora, J. 2013. Australian and Pacific contributions to the genetic diversity of Norfolk Island feral chickens. *BMCgenetics*, 14(1), 91.

Latham, R. E. 1927. Las Relaciones Prehistóricas entre América y la Oceanía. La Información, Año 16 (122): 545 ss.

Latham, R.E. 1922. Los animales domésticos de la América pre-Colombiana. Museo de Etnología e Antropología 3(1): 1-199.

Lee, Y.J.; Bhuiyan, M.S.A.; Chung, H.J.; Jung, W.Y.; Choi, K.D.; Jang, B.G.; Paek W.K.; Jeon, J.T.; Park, C.S.; Lee, J.H. 2007. Mitochondrial DNA Diversity of Korean Ojol Chicken. *Asian-Aust J AnimSci*, 20:477–481.

Liu, Y.P.; Wu, G.S.; Yao, Y.G.; Miao, Y.W.; Luikart, G.; Baig, M.; Beja-Pereira, A.; Ding, Z.L.; Palanichamy M.G.; Zhang, Y.P. 2006. Multiple maternal origins of chickens: Out of the Asian jungles. *Mol Phylogenet Evol*.38:12–19.<http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2005.09.014>.

MacHugh, D. E.; Shriver M. D.; Loftus R. T.; Cunningham P.; Bradley D. G. 1997. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics* 146:1071–86.

Miao, Y.W.; Peng, M.S.; Wu, G.S.; Ouyang, Y.N.; Yang, Z.Y.; Yu, N.; Liang, J.P.; Pianchou, G.; Beja-Pereira, A.; Mitra, B.; Palanichamy, M.G.; Baig, M.; Chaudhuri, T.K.; Shen, Y.Y. 2013. Chicken domestication: An updated perspective based on mitochondrial genomes. *Heredity* (Edinb) 110(3):277–282.

Miller, S. A.; Dikes, D.D.; Polesky, H. F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res.* 16 (3):1215.

Molina L.F. 2002. La avicultura en Colombia, Avicultores de Colombia, Fenavi, Bogotá, DC. Colombia 368p.

Mtileni, B. J.; Muchadeyi, F. C.; Maiwashe, A.; Chimonyo, M.; Groeneveld, E.; Weigend, S. *et al.* 2011. Diversity and origin of South African chicken. *Poultry Science*, 90, 2189–2194.

Muchadeyi, F.C.; Eding, H.; Simianer, H.; Wollny, C.B.A.; Groeneveld, E.; Weigend, S. 2008. Mitochondrial DNA D-loop sequences suggest a Southeast Asian. *Animal Genetics*. 39:615:622.

Muñoz, J. E.; Valencia, N. F.; Poso, A. 2007. Caracterización molecular en tipos de gallina criolla. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 20:4. 532.

Mwacharo, J. M.; Bjørnstad, G.; Mobegi, V.; Nomura, K.; Hanada, H.; Amano, T. *et al.* 2011. Mitochondrial DNA reveals multiple introductions of domestic chicken in East Africa. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 58, 374–382.

Nordenskiöld, E. 1922. Deductions suggested by the geographical distribution of some post-Columbian words used by the Indians of South America. *Comparative Ethnographical Studies* 5. New York: AMS Press.

Oka, T.; Ino, Y.; Nomura, K.; Kawashima, S.; Kuwayama, T.; Hanada, H.; Amano, T.; Takada, M.; Takahata, N.; Hayashi, Y.; Akishinonomiya, F. 2007. Analysis of mtDNA sequences shows Japanese native chickens have multiple origins. *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*, 38, 287–293.

Pagani M.H. 2011. Análisis da variabilidade genética de linhagens de galinhas caipiras brasileiras. Trabalho de Dissertação. Universidade do Estado de

Santa Catarina, UDESC 63 p. http://cienciaanimal.cav.udesc.br/wp/wp-content/uploads/2012/10/Mari_Possamai.pdf

Palacios, Y.; Muñoz, J.E.; Álvarez, L. A. 2013. Diversidad genética de la gallina criolla. Memorias XIV Simposio ibero americano sobre conservación y Utilización de los Recursos Zoogenéticos. Chile.

Patiño, V.M. 1970. Historia de la actividad agropecuaria de la América Equinoccial. Animales domésticos introducidos. Cali-Colombia, 1970. t 5. p. 37 - 39.

Ramirez, J.M. y Matisoo-Smith, E. 2008. Polinesios en el Sur de Chile en tiempos prehistóricos: evidencia dura, nuevas preguntas y una nueva hipótesis. *Clava* 7: 85-100.

Razafindraibe, H.; Mobegi, V.A.; Ommeh, S.C.; Rakotondravao, M.L.; Bjornstad, G.; Hanotte, O.; Jianlin, H. 2008. Mitochondrial DNA origin of indigenous Malagasy chicken. *Ann N Y Acad Sci*, 1149:77-79.

Revelo, H. y Valenzuela, M. 2014. Caracterización de los sistemas de producción tradicional de la gallina criolla y la morfología en el suroccidente colombiano. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 56p.

Revelo, H.; Arredondo, J.; Muñoz, J.; Arenas, L.; Pacheco, I.; Mosquera, J.; Alvarez, L. A. 2011. Caracterización morfológica y molecular de la gallina criolla (*Gallus domesticus*) en Nariño, Putumayo, Valle del Cauca y Chocó. En: *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 24, 381. <http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/viewFile/713/68>.

Rozas, J.; Sánchez-Del Barrio, J.C.; Messeguer, X.; Rozas, R. 2003. *Bioinformatics* 19:2496-2497.

Rúales, F.; Manrique, C.; Reyes, F., Molina, L.; Latorre, A. 2009. Caracterización Morfológica y Zometrica de Gallinas criollas en el Municipio de Florencia Caquetá

Memorias. X Simposio Iberoamericano sobre conservación y utilización de Recursos Zoogenéticos. Universidad nacional de Colombia sede Palmira. Noviembre 2009.

Storey, A. A.; Ramírez, J. M.; Quiroz, D.; Burley, D. V.; Addison, D. J.; Walter, R.; Anderson, A. J.; Hunt, T. L.; Athens, J. S.;Huynen, L.; Matisoo-Smith, E. A. 2007. Radiocarbon and DNA evidence for a pre-Columbian introduction of Polynesian chickens to Chile. *ProcNatlAcadSci USA*. 104:10335–10339.

Storey, A. A.; Spriggs, M.; Bedford, S.; Hawkins, S. C.; Robins, J. H.;Huynen, L.; Matisoo-Smith E. 2010. Mitochondrial DNA from 3000-year old chickens at the Teouma site, Vanuatu. Elsevier *Journal of Archaeological Science* 37, 2459e2468.

Storey, A. A; Athens, J.; Bryant, D.; Carson, M.; Emery, K.; Susan, D. 2012. Investigating the Global Dispersal of Chickens in Prehistory Using Ancient Mitochondrial DNA Signatures. *PLoS ONE* 7, e39171, doi: 10.1371/journal.pone.0039171 P.11.

Sulandari, S.; ArifinZein, M.S.; Sartika, T. 2008. Molecular Charactertzation of IndonesianIndigenous Chickens based on Mitochondrial DNA Displacement (D)-loop Sequence. *HAYATI Journal of Bioscience*, 15:145–154.

Tamura, K.; Dudley, J.;Nei, M.; Kumar, S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis MEGA. software version 4.0. *MolBio/Evol* 24: 1596–1599.

Thomson, V. A.; Lebrasseur, O.; Austin, J. J.; Hunt, T. L.; Burney, D. A.; Denham, T. *et al.* 2014. Using ancient DNA to study the origins and dispersal of ancestral Polynesian chickens across the Pacific. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(13), 4826–4831. doi:10.1073/pnas.1320412111.

Underhill, A.P. 1997. Current Issues in Chinese Neolithic Archaeology. *Journal of WorldPrehistory* 11: 103–160.

Valencia, N.F. 1999. Evaluación del potencial de algunos tipos de gallina criolla en condiciones de economía campesina, tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 74p.

Valencia, N.F.; Betancourt, G.; Muñoz, J.E.; Valencia, A.; Santos, E. 1990. Origen, desarrollo, y descripción de los tipos de gallina "criolla" existentes en varios municipios del Valle del Cauca. *Acta Agron.* Palmira. 40 (1-2) 187 - 195 .

Valencia, N.F. 2003. Caracterización de la curva de crecimiento en cuatro tipos de gallina criolla. *Revista Acta Agronómica*. 52 (1-4) 85-92.

Valencia, N.F. 2008. Catálogo de la gallina criolla colombiana. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. 61 p.

Vázquez, E.; Castañeda, S.; Garrido, T.; Gutierrez, T. 2009. Avances metodológicos para el estudio conjunto de la información genética, genealógica y geográfica en análisis evolutivos y de distribución. *rev. chil. hist. nat.* vol.82, n.2, pp. 277-29.

West, B. y Zhou, B.X. 1988. Did chickens go North? New evidence for domestication. *J ArchSci* 15: 515–533.

Wilhelm, O.E. 1957. Las gallinas de la Isla de Pascua (nota genética preliminar). *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción*. Vol. 32. 1957. p.134-135.

Wilhelm, O.E. 1978. The pre-Columbian Araucanian chicken (*Gallus inauris*) of the Mapuche Indians. In *Advances in Andean archaeology*. D.L. Browman (ed). *Advances in Andean Archaeology*. pp. 189-196. Paris Mouton Publishers.

Yen, D.E. 1974. The sweet potato and Oceania: An Essay in Ethobotany. *Bulletin* 236, Bishop, Museum, press Honolulu Hawaii pp.1-398.

Zaragoza, L.M.; Martínez, B.; Méndez, A.; Rodríguez, V.; Hernández, J.; Rodríguez, G.; Pérezgrovas, R. 2011. "Avicultura familiar en comunidades indígenas de Chiapas, México". En: AICA Actas Iberoamericanas de Conservación

Animal Vol. 1. Red CONBIAND (Editores). Córdoba, Esp. Pp 411-415. ISSN: 2253-732.

Zaragoza, L.M. 2012. Caracterización Fenotípica Producción y Uso Tradicional de Gallina Locales en los Altos de Chipas. Tesis Posgrado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados pueblas, Puebla.

Anexo: Fotografías de las muestras Sexo y Región de muestreo

N°	Departamento	Municipio	Vereda /Corregimiento	Sexo	Foto
103	Chocó	Pie de Pato	Bella Vista	♀	
107	Chocó	Pie de Pato	Puerto Aracely	♂	
109	Chocó	Pie de Pato	Puerto Aracely	♂	
110	Chocó	Pie de Pato	Puerto Aracely	♂	
116	Chocó	Pie de Pato	Puerto Echeverry	♀	
11	Chocó	Bahía Solano	Playa Majajual	♀	

124	Valle de Cauca	Palmira	Palmira	♂	
12	Chocó	Bahía Solano	Playa Majajual	♂	
130	Valle del Cauca	Palmira	Palmira	♂	
139	Valle del Cauca	Palmira	Calucé	♂	
13	Chocó	Bahía Solano	El Valle	♂	
140	Valle del Cauca	Palmira	Calucé	♂	
141	Valle del Cauca	Palmira	Calucé	♀	
148	Valle del Cauca	Guadalajara de Buga	El Vínculo	♀	

157	Valle del Cauca	Palmira	Tenjo	♀	
15	Chocó	Bahía Solano	El Valle	♀	
16	Chocó	Bahía Solano	El Valle	♀	
18	Chocó	Bahía Solano	El Valle	♂	
19	Chocó	Bahía Solano	El Valle	♂	
20	Chocó	Bahía Solano	El Valle	♀	

21	Chocó	Bahía Solano	El Valle	♀	
24	Nariño	Ipiales	San Juan	♀	
29	Chocó	Pie de Pato	Bella Vista	♀	
30	Nariño	Ipiales	Chaguaipe	♀	
2	Chocó	Puerto Meluk	Batatal	♀	
32	Nariño	Puerres	Chitamar	♀	

38	Nariño	Puerres	Loma Redonda	♀	
3	Chocó	Puerto Meluk	Batatal	♂	
41	Nariño	Potosí	Sinaí	♀	
46	Nariño	Potosí	La Villa	♀	
4	Chocó	Puerto Meluk	Puerto Adán	♀	
51	Nariño	Potosí	La Florida	♀	

54	Nariño	Córdoba	Tandaud	♀	
59	Nariño	Córdoba	Quemado	♀	
60	Nariño	Córdoba	Pulis	♀	
61	Nariño	Córdoba	Pulis	♀	
62	Nariño	Córdoba	Pulis	♀	
67	Nariño	Córdoba	Pulis	♀	
6	Chocó	Puerto Meluk	Puerto Adan	♂	

7	Chocó	Puerto Meluk	Puerto Adán	♂	
82	Valle del cauca	Palmira	Palmira	♂	
8	Chocó	Puerto Meluk	Puerto Adán	♀	
94	Chocó	Pie de Pato	Bella Vista	♂	
115	Chocó	Pie de Pato	Puerto Echeverry	♂	
128	Valle del Cauca	Palmira	Palmira	♂	

33	Nariño	Puerres	Chitamar	♀	
137	Valle del Cauca	Guacarí	Sonso	♀	

84	Valle del Cauca	Palmira	Palmira	♂	
138	Valle del Cauca	Palmira	Calucé	♂	
149	Valle del Cauca	Guadalajara de Buga	El Vínculo	♀	
154	Valle del Cauca	Palmira	Calucé	♂	

48	Nariño	Potosí	La Villa	♂	
166	Nariño	Córdoba	San Pablo	♂	
53	Nariño	Córdoba	Tandaud	♀	
23	Nariño	Ipiales	San Juan	♀	
28	Nariño	Ipiales	Chaguaipe	♀	
36	Nariño	Puerres	Loma Redonda	♀	

37	Nariño	Puerres	Loma Redonda	♀	
55	Nariño	Córdoba	Tandaud	♂	