Diversidad genética y relaciones filogenéticas del ganado criollo colombiano

Fernando Moreno O.[1] Gabriel Bedoya B.[5]
James N. Derr.[3] Luis Guillermo Carvajal C.[5]
Nelson Bermúdez G.[5] Fabio N. Zuluaga.[2]
Jorge Ossa L.[2] Jesús Berdugo.[2]
Luzardo Estrada L.[4] José Barrera.[1]
Davis Scott.[3] Andrés Ruíz Linares.[5]

Diversity and Phylogenetic Relations of Colombian Criollo Cattle

ABSTRACT

Studies of genetic characterisation of Colombian criollo cattle (gcc) has shown the value of these breeds in tropical production systems; consequently, attention is noticeably growing to develop conservation and multiplication programs. A genetic analysis study was conducted including the seven criollo cattle breeds: Blanco Orejinegro (BON), Romosinuano (R), Costeño Con Cuernos (CCC), Sanmartinero (SM), Chino Santandereano Ch), Hartón del Valle (H) and Casanareño (C), using Cebu as external control breed, with the purpose to evaluate genetic diversity and philogenetic relations. Seven microsatellite (STR) were used to detect length variations amplified by the PCR and sized by means of $\gamma^{32}P$, runned in PAGE or tagged with a fluorescent dye and electrophoresis. Data were analysed using Genepop, GDA and Phylip programs. Mean number of alleles by loci were 8.9 and mean heterozygocity was 0.52. The phylogenetic tree developed using Phylip program, the Nei's distance and the neighbour-joining aglorithm grouped in two the gcc. Group one included: Bon, SM, R,CCC and H, and the second group included Ch, Ca, C. Results of the phylogenetic relations of gcc showed that these breeds have adequate genetic diversity for breeding programs; however we suggest to carry out studies including higher number of genetic markers.

Key words: Genetic diversity, phylogenetic relationship, Colombian creole cattle, microsatellites, population genetics, genetic markers.

RESUMEN

La caracterización genética del ganado criollo colombiano (gcc) ha demostrado el valor de estas razas en los sistemas productivos tropicales, lo que ha despertado el interés para desarrollar programas de conservación y multiplicación. Se adelantó un estudio de análisis genético con las siete razas de ganado criollo colombiano, (rgcc): Blanco Orejinegro (BON), Romosinuano (R), Costeño Con Cuernos (CCC), Sanmartinero (SM), Chino Santandereano (Ch), Hartón del Valle (H) y Casanareño (Ca), utilizando el Cebú (C) como control, con el objeto de evaluar su diversidad genética y relaciones filogenéticas. Se usaron 7 microsatélites (STR) para establecer las distancias genéticas amplificadas mediante PCR. El tamaño de los loci se definió mediante marcaje con $\gamma^{32}P$ seguido de un pase en geles de poliacrilamida (PAGE) o marcados con fluorescencia y electroforesis capilar. Los datos se analizaron usando los programas Genepop, GDA y Phylip. El número promedio de alelos por locus fue de 8,9 y la heterocigosidad promedia observada fue de 0,52. El árbol filogenético construido con el programa Phylip, empleando la distancia de Nei y el algoritmo de Neighbour-joining, agrupó en dos las gcc. En el grupo uno las razas: BON, SM, R, CCC y H; y en el grupo dos las razas: Ch, Ca y C. Los resultados de evaluación filogenética de las gcc indicaron que existe diversidad genética adecuada en estas razas para programas de mejoramiento genético; sin embargo, se recomienda continuar el estudio con un mayor número de marcadores genéticos.

Palabras claves: Diversidad genética, relaciones filogenéticas, ganado criollo colombiano, genética de poblaciones, marcadores genéticos, microsatélites.

INTRODUCTION

Se han estudiado algunas de las características fenotípicas (productivas, reproductivas y de adaptación) en el ganado criollo colombiano (gcc). Estos estudios resaltan su valor en programas sostenibles de carne, leche y/o doble propósito; principalmente a través de cruzamientos con razas especializadas y se ha visto la urgente necesidad de intensificar los programas de conservación y multiplicación de las razas criollas, puesto que el gcc se ha designado como un componente esencial en programas tropicales sostenibles de producción bovina (Arboleda, 1980; Pinzón, 1984; Philipson, 1992; Moreno, 1994; Franco y Mejía, 1996; Pinzón, 1996 a, b; Hernández, 1997 y Arboleda y Cáceres, 1998). Son siete las razas de gcc (rgcc): Romosinuano (R), Costeño Con Cuernos (CCC), Blanco Orejinegro (BON), Sanmartinero (SM), Hartón del Valle (H), Chino Santandereano (Ch) y Casanareño (Ca). Esta cantidad y calidad de razas criollas colocan a Colombia en primer lugar en diversidad bovina en América Latina.

En 1525, durante la conquista, hubo tres entradas de ganado a Colombia: un lote de 200 vacas provenientes de la Española (hoy República Dominicana y Haití), traído por Rodrigo de Bastidas a Santa Marta; en 1542 llegó también a este lugar un pequeño lote traído por Alonso Luis de Lugo de Las Canarias, que parece ser fue el grupo que migró más rápidamente al Nuevo Reino de Granada por el río Magdalena, y en tercer lugar, el ganado proveniente de Venezuela (Pinzón, 1984; CEGA, 1987 y Pinzón, 1996 a, b) se distribuyó por las diversas regiones formando las diferentes razas denominadas en este estudio 'poblaciones'.

1. Programa Nacional de Recursos Genéticos y Biotecnología Animal. A.A. 240142 Las Palmas, Bogotá, Colombia. fmoreno@corpoica.org.co
2. Laboratorio de Virologia, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.
3. Veterinary Pathobiology, Texas A & M University, College Station, Texas 77843, USA.
4. Instituto de Genética, Universidad Nacional, AA 14490, Bogotá, Colombia.
5. Laboratorio de Genética Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

La literatura revisada no permite tener una idea clara de cómo se formaron las diferentes rgcc. Sin embargo, de acuerdo con Pinzón (1984), las razas R, SM, Ch y H se derivan directamente del CCC. Con respecto al origen del R existen dos hipótesis: una propone una mutación en el CCC, y otra, una mezcla entre CCC y Angus rojo, pero en cualquiera de los casos, la multiplicación del núcleo fue estimulado por la preferencia por los ganados topos en la Feria de Medellín, hasta cuando entró el Cebú y ocurrió la absorción o introgresión genética que amenazó, inclusive con la extinción de las rgcc. El origen del SM pudo deberse a la mezcla entre CCC y ganados del occidente del país, Casanare y Venezolanos. La raza Ch pudo resultar del cruzamiento de CCC con ganados del oriente (Venezuela) y del sur occidente (Huila y Tolima); la historia del núcleo puro en este caso es más reciente (1965), si se compara con la de las otras razas mencionadas (1935). En cuanto a H, esta raza aparece por una mezcla de CCC con ganados del sur (Perú y Ecuador) (Pinzón, 1984; CEGA, 1987 y Pinzón, 1996b).

El BON es la única de las rgcc de color blanco, las demás varían entre rubias y hoscas (oscuras) con predominio de las diferentes tonalidades de rojo; está localizado en suelos de ladera como la Ch. Existe literatura extensa acerca del origen del BON, pero su gran mayoría se basa en documentos históricos de la Colonia impregnados con especulaciones. Ramírez (1991) es quien más teorías aporta, pero así como otros autores, concluye que esta raza procede del ganado Berrendo Español. Los primeros núcleos del BON se formaron en los Departamentos de Cauca, Huila y Tolima, lo que contradice la creencia popular que da a Antioquia el privilegio de este evento (Arboleda, 1980; Pinzón, 1984; Franco y Mejía, 1996; Pinzón, 1996a y Arboleda y Cáceres, 1998). La Ca parece ser la más pura de estas razas por su aislamiento natural; sin embargo, el origen tan reciente del hato puro (1980 es la primera fecha reportada por Banco Ganadero, 1986) la predispone a una mayor introgresión del C, cuyo registro de ingreso a la región fue alrededor de 1950 (Delgado, 1996). Es necesario iniciar un proceso de reconocimiento de las razas criollas colombianas por medio de la genética molecular y de poblaciones, con el fin de dilucidar tanto el origen como la pureza de los núcleos existentes, propósito del presente trabajo.

Materiales y Métodos

Se analizaron 94 muestras de DNA de siete razas criollas y 11 de Cebú: Blanco Orejinegro (BON), Romosinuano (R), Costeño Con Cuernos (CCC), Chino Santandereano (Ch), Sanmartinero (SM), Casanareño (Ca) y Hartón del Valle (H). Se incluyeron los individuos con el menor grado de parentesco posible de cada raza. La Tabla 1 ilustra la distribución de las muestras por raza; predomina el BON, donde hubo una importante contribución de la Universidad de Antioquia en el muestreo.

Para la extracción del DNA se siguió la técnica de fenol descrita por Sambrook, *et al.*, (1989). Los análisis se hicieron por reacción en cadena de las polimerasa, PCR seguida de electroforesis en geles de poliacrilamide desnaturalizante, PAGE, o por fluorescencia. La Tabla 2 presenta los datos de los siete loci seleccionados. Se incluyen: nombre, número del cromosoma en el cual se mapeó, secuencias de los primers, todos en dirección 5'-3', número de alelos, tamaño reportado en pares de bases y referencia de la cual se tomó la información. Se deben resaltar los 16 alelos del locus BMC 1222. En cuanto a condiciones de PCR, se usó un volumen de solución total de 30 µl que contenían aproximadamente 50 ng de DNA genómico, pero este volumen se modificó a 20 µl con los primers fluorescentes (BM 1225, BM 4513 y BMC 1222); la concentración final fue similar y en algunos casos fue necesario ajustarla a $MgCl_2$, cuando varió entre 1.5 y 2.5 mM con el fin de mejorar la reacción.

El proceso se inició con un ciclo de desnaturalización de 5 minutos a 94°C, seguido por 35 ciclos así: 94°C durante 30 s; la mejor temperatura de "annealing" por 30 a 45s y 74°C por 15 a 30s se terminó con un ciclo de extensión de 5 min a 72°C. (Estrada *et al.*,1994). Para determinar si era efectiva la reacción de amplificación, se examinaron los productos amplificados en electroforesis de agarosa al 2%, tiñendo con bromuro de etidio. Se marcó uno de los primers en el extremo 5' con $\gamma^{32}P$ (mediante una reacción estándar con polinucleótido kinasa de T_4), el producto de amplificación (radioactivo), se resolvió por medio de un gel desnaturalizante de poliacrilamida (PAGE) y su tamaño se calculó corriendo en forma paralela como marcador una escalera de secuencia conocida. La visualización se realizó por medio de autorradiografía, la cual requiere práctica para su interpretación y asignación de genotipos (tipificación).

Se tipificaron tres loci con primers fluorescentes BM 1225, BM 4513 y BMC 1222 en la Universidad de Texas. Las condiciones de amplificación fueron similares a las anteriores pero se utilizó un volumen final de 20 µl; luego se diluyó la muestra en agua destilada (1:15), se mezcló con 'buffer' (solución tampón) de corrido en relación 1:1 y se sometió a electroforesis capilar en un analizador genético ABI 310, de Perkin Elmer. Este equipo tiene un rayo láser que excita los fluorocromos, con los cuales se ha marcado un 'primer' (oligonucleótido), para cada uno de los loci; a medida que pasan por una ventana en el capilar, y dependiendo de su tamaño el fluorocromo emite una luz visible con un λ específico. El resultado es un pico que genera el computador con un color de acuerdo con el fluorocromo utilizado para marcar el fragmento, esta información es recibida, almacenada y procesada con el programa Genotyper para determinar tamaño del alelo y genotipo para cada uno de los loci. Pueden correrse varios productos (loci) de PCR simultáneamente (multiplex), lo que hace que el trabajo con este equipo sea altamente eficiente.

Tabla 1. Distribución de muestras de DNA analizadas por raza

RAZA-Nombre resumido-Abreviatura	Número de muestras
Blanco Orejinegro- BON-B	43
Romosinuano-Romo-R	5
Sanmartinero-SM	26
Costeño con Cuernos-Costeño CCC	4
Chino Santandereano-Chino-Ch	8
Hartón del Valle-Hartón-H	4
Casanareño-Casanare-Ca	4
Cebú-C	11
Total: 8 razas (1 externa)	105

Resultados y Discusión

La Tabla 3 muestra los datos obtenidos de frecuencias alélicas para el locus BM 4513, debido a que con él se consiguieron resultados para diferente número de

muestras en cada una de las poblaciones. Se observa una gran variabilidad dentro y entre razas: Para el BON, por ejemplo, las frecuencias varían de 0.000 a 0.474. El 0 significa ausencia del alelo en la muestra analizada.

Histograma de frecuencias génicas

La Figura 1 presenta el histograma de frecuencias de los diferentes alelos (desde 133 hasta 159 pb) del locus BM 4513 en las ocho razas del estudio y corresponde a los datos de la Tabla 3; este locus se escogió para hacer comparación entre razas debido a que con él se obtuvo información para cada una de ellas; en cambio, con otros loci se presentaron problemas metodológicos como amplificación deficiente, lo cual podría deberse a dificultades en el diseño de los primers. De lo observado se puede concluir, *Primero*: Dentro de la población de *B. taurus* el número de alelos encontrado, en orden decreciente, fue el siguiente: SM (7), BON (6), Ch y R (5), CCC, H y Ca (3); en los tres últimos se analizó un menor número de muestras, por lo tanto, es necesario validar estos resultados aumentando su número. *Segundo*: Las mayores frecuencias obtenidas para un alelo determinado en cada una de las razas fue: BON 137 con 0.47, R 137 con 0.50, SM 139 con 0.40, Ch 137 con 0.36, H 137 con 0.50, Ca 143 con 0.71, CCC presentó tres alelos (137, 139 y 143) con frecuencia similar de 0.33 y C cuatro alelos (137, 139, 143 y 145) con frecuencias similares de 0.25 cada uno. El alelo 145 sólo se detectó con frecuencias de 0.25 en C y en Ch y en BON con 0.06; entonces, si el alelo es un marcador para Cebuínos, su detección en Ch puede implicar mestizaje por su alta frecuencia (0.25) y no puede explicarse por mutación; en cambio en BON, la frecuencia tan baja puede significar la aparición de un alelo nuevo por mutación; el alelo 137 detectado con alta frecuencia en cinco poblaciones incluyendo el C podría ser un marcador del género Bos. *Tercero*: Con el análisis únicamente de un locus no se puede definir un solo marcador completamente específico para taurinos; por lo tanto, es necesario hacer análisis de haplotipos multiloci para determinar sus frecuencias preponderantes con el fin de diferenciar las razas cebuínas de las taurinas y en este sentido, es imperativo trabajar con un número de muestras significativas igual para cada una de las poblaciones y en lo posible, aumentar el número de marcadores.

Número promedio de alelos (npa) por locus

El número de alelos observados en cada locus en el grupo de razas criollas (*Bos taurus taurus*) y Cebú (*Bos taurus indicus*) varió de 5 para el BM 1225 a 13 para el BMC 1222 con un número promedio de alelos por locus (npa) de 8.9, lo cual es indicativo de una buena variabilidad genética, siempre y cuando haya equilibrio entre la deriva y la mutación y se tenga un número aproximadamente igual de muestras por población (Nei, 1987).

Un hallazgo que refuerza el mapa genético bovino (Bishop *et al.*,1994, Ma *et al.*,1996 y Kappes *et al.*,1997) está relacionado con los loci BM 4513 y BMC 1222. En

Tabla 2. Loci microsatélites utilizados para la descripción de las razas de ganado bovino criollo colombiano

Locus	Cr.[a]	PCR primers (5'-3')	na[b].	Tamaño (bp)	Ref
BM1225	20	F: TTT CTC AAC AGA GGT GTC CAC R: ACC CCT ATC ACC ATG CTC TG	9	227-251	2
BM4311	6	F: TCC ACT TCT TCC CTC ATC TCC R: GAA GTA TAT GTG TGC CTG GCC	8	100	1
BM4513	14	F: GCG CAA GTT TCC TCA TGC R: TCA GCA ATT CAG TAC ATC ACC C	10	141-161	3
BM6501	7	F: ACT AAT AAG AAA TTC TGC ATG TGT G R: CCA CCA TGA CTC AGA AGT AGT TC	10	100	3
BMC1222	13	F: CCA ATT TTG CAG ATA AGA AAA CA R: CCT TGA GTG TTC CTC CTG AGT	16	268-302	2
COW9	?	F: GCA CAC AGA TTC TTT ACC AAG TG R: TGG ATG GAG GAA CCT AGC AG	?	?	3
MAF70	4	F: CAC GGA GTC ACA AAG AGT CAG ACC R: GCA GGA CTC TAC GGG GCC TTT GC	11	121-149	3

[a] Cromosoma, [b] Número de alelos. 1: Estrada *et al.*,1994, 2: Ma *et al.*,1996, 3: Bishop *et al.*, 1994. F: Forward, R: Reward.

Tabla 3. Distribución alélica para el locus microsatélite BM 4513 en las ocho razas criollas colombianas

ALELOS	bp	BON	R	SM	CCC	Ch	H	Ca	Ce
1	133	0.116	0	0	0	0	0	0	0
2	135	0.128	0.100	0.036	0	0.083	0	0	0.250
3	137	0.474	0.500	0.286	0.333	0.333	0.500	0.125	0.250
4	139	0.192	0.100	0.393	0.333	0	0	0	0
5	141	0.026	0.200	0.178	0	0.167	0.333	0	0
6	143	0	0	0.04	0.333	0.167	0.167	0.750	0.250
7	145	0.064	0	0	0	0.250	0	0	0.250
8	147	0	0	0.036	0	0	0	0.125	0
9	159	0	0.100	0.036	0	0	0	0	0

0 Alelo ausente en la muestra utilizada.

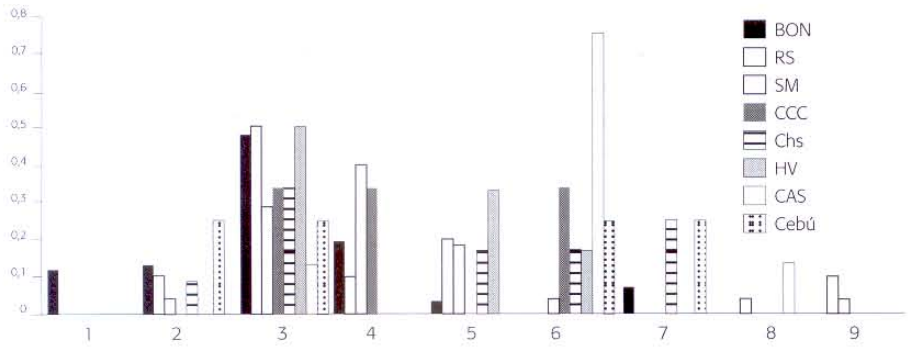

Figura 1. Frecuencias alélicas para el locus BM4513 en las ocho razas del estudio. Mayor número de alelos en SM (7) y BON (6), Ch y R (5). El alelo 6 (145pb) es un posible indicador de mestizaje en Ch. El alelo 137 podría ser marcador del genéro *Bos.*

el primero se encontraron cuatro alelos nuevos, no reportados en los mapas mencionados, con 133 a 139 pares de bases y en el segundo se encontró el alelo 270. En la construcción del mapa genético bovino se han utilizado razas comerciales mucho menos polimórficas que las razas criollas, debido a la presión de selección y endogamia de las primeras, resultado de los programas de mejoramiento genético aplicado a dichas razas (Bannikova y Zubareva, 1995). Las razas usadas para la construcción del mapa fueron taurinas europeas y algunas cebuínas; las criollas españolas que servirían de comparación a las criollas colombianas no se incluyeron.

El npa detectado en este trabajo fue más alto que los reportados por Ciampolini *et al.*, (1995) en razas italianas (7.2); Moazami-Goudarzi *et al.*, (1997) en francesas (6.8) y Mac Hugh *et al.*, (1994) en británicas (3.6); prácticamente igual al npa de 9.0 encontrado en razas criollas africanas, cebuínas africana y cebuínas asiáticas (Mac Hugh *et al.*,1997) y ligeramente más bajo que el 10.0, reportado para razas criollas españolas por Arranz *et al.*, 1996 citados por Carvajal y Bermúdez (1998), (Tabla 4).

En SM y BON, las dos razas que presentaron mayor variabilidad, cinco de los siete loci analizados fueron polimórficos, es decir, se detectaron más de dos alelos en cada locus. Dos de los siete no se analizaron en SM. Estos resultados son un buen indicativo del posible repertorio genético que las dos razas tienen como fuente de genoma bovino, el cual puede servir para mejorar razas comerciales con el fin de disminuir la erosión que resulta de la endogamia, producto de los métodos clásicos de selección utilizados en hatos de cría comercial, puesto que las razas bovinas especializadas son mucho menos polimórficas que las razas criollas, debido a que las primeras demuestran endogamia forzosa y a las segundas, por el contrario, se les procura una alta variabilidad con los programas de conservación y con apareamientos dirigidos.

Las razas especializadas se someten a una fuerte presión de selección que solo permite reproducción de los mejores, usualmente parientes cercanos; entonces hay consanguinidad o déficit de heterocigosis lo cual es, en última instancia, lo que se procura con las características de importancia económica normalmente poligénicas (Bannikova & Zubareva,1995; Warwick & Legates,1992; Falconer,1981 y Lasley,1970). Por su parte, Hernández (1997), en su programación de apareamientos circulares cíclicos para los hatos criollos, propone sólo la monta programada concienzudamente, animal por animal, en varias líneas tan abiertas como sea posible, dependientes de los abuelos paternos no emparentados y utilizando el mayor número posible de reproductores. En conclusión, en cuanto al npa puede decirse que fue lo suficientemente alto (8.9) cuando se tomó toda la población, pero el rango que va de 5 a 13 puede estar indicando que existen razas criollas con mayor variabilidad como por ejemplo SM y BON y razas que la están perdiendo como es el caso de Ca. Lo anterior requiere validación en cuanto a tamaño de la muestra, pero si estos resultados son confirmados, el npa podría ser indicativo de introgresión de la raza C en las criollas puesto que ésta fue una de las poblaciones con menor npa, específicamente 4 alelos para el locus BM 4513.

Heterocigosidad (Ho)

La heterocigosidad media para todos los loci fue 0.52 con rango bastante amplio (de 0.25 a 0.96) y los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 5. La hetorocigosidad observada (Ho) en este estudio es superior a 0.47, y fue hallada por Mac Hugh *et al.*,(1994) para razas británicas, y a 0.50 en búfalos, informada por Barker *et al.*,(1993), (se menciona por ser una especie nativa no mejorada) y es inferior a 0.74, encontrada en algunas razas criollas españolas (Arranz *et al.*,1996 citados por Carvajal y Bermúdez,1998), a 0.62 reportada para razas francesas por Moazami-

Tabla 4. Número promedio de alelos (npa) en seis diferentes razas bovinas en el mundo

Autores	Año	Razas	NPA	Rango
Arranz *et al.*, citados por Carvajal y Bermúdez 1998	1996	Criollas Españolas	10.0	ND
Mac Hugh *et al.*,	1997	Criollas Africanas, Cebuínas Africanas y Cebuínas Asiáticas	9.0	ND
Este Estudio	1998	Criollas Colombianas	8.9	ND
Ciampolini *et al.*,	1995	Italianas	7.2	6.5-8.0
Moazami-Goudarzi *et al.*,	1997	Francesas	6.8	6.0-7.7
Mac Hugh *et al.*,	1994	Británicas	3.6	3.4-3.8

ND: No disponible.

Goudarzi *et al.*, (1997) y a la hallada para razas cebuínas africanas, cebuínas asiáticas y la taurina africana N'dama con 0.63, 0.57 y 0.54, respectivamente, informadas por Mac Hugh *et al.*, (1997). Como se observa en la Tabla 5, el rango varía ampliamente desde 0.25 para la población Ca hasta 0.96 para SM y está directamente relacionada con el npa para los loci BM 1225 y BMC 1222; además, coincidió también con lo esperado en el sentido de que se sospechaban más alelos para el locus BMC 1222 (el que mayor número reporta la literatura, 16 alelos, Tabla 2). El valor de Ho de 0.52 posiblemente se deba al poco número de muestras analizado en las poblaciones y presentaron un valor de Ho < 0.50 aquellas razas en las cuales se analizó un menor número de muestras (Ca, H, Ch y R) y la mayor Ho se obtuvo en BON, de la cual se analizó el mayor número de muestras.

Los principales factores que disminuyen la heterocigosidad esperada en una población son: endogamia, deriva genética y selección; ésta última no se tuvo en cuenta en este trabajo puesto que se utilizaron marcadores neutros.

Endogamia y Fis

La endogamia se debe a cruces consaguíneos y se puede medir como la frecuencia de individuos homocigóticos, lo cual se conoce tradicionalmente como factor de endogamia (F), dicho factor se puede calcular cuando se analizan pedigríes; en otros casos, la endogamia está definida por el coeficiente de endogamia (Fis) de acuerdo con Hardy Weinberg y descrito por Hartl (1988) y mide el déficit o exceso de heterocigosis de un individuo teniendo en cuenta el tipo de apareamiento dentro de su población, ya sea éste consanguíneo o panmíctico. El Fis se expresa mediante una fórmula sencilla, así: Fis = (Hs - Hi) / Hi; donde Hs es la heterocigosidad esperada de un individuo en una subpoblación equivalente a apareamiento al azar y a Hi que es la heterocigosidad de un individuo dentro de una subpoblación y puede interpretarse como la hetecigosidad promedio de todos los genes de un individuo o como la probabilidad de heterocigosidad de cualquier gene.

El Fis hallado en este estudio fue de 0.14 (promedio aritmético simple) y varió de 0.04 para el locus BMC 1222 a 0.19 para el MAF 70. Como se esperaba, el locus más polimórfico y que expresó mayor variabilidad genética fue también el que presentó el menor coeficiente de endogamia. La variación general del Fis fue supremamente alta; por ejemplo, para el BON fue desde -0.15 en el locus BMC 1222 hasta +0.45 en el locus BM 4311. Se observó una tendencia general (no mostrada) a aumentar el Fis cuando n (número de alelos totales observados en el locus) era pequeño; en el caso mencionado, para un Fis de -0.15 correspondió un n de 78 y para + 0.45 n =32.

Cuando el Fis tiende a cero, significa que la población está cerca del equilibrio de Hardy-Weinberg puesto que la Ho es semejante a la heterocigosidad esperada (Hi) por individuo; la Hi se calcula por el término del binomio 2pqr, siendo **p**, **q** y **r** frecuencias alélicas y el cálculo se realiza para todos los loci. Las desviaciones de cero pueden ser positivas o negativas como es el caso de BON para los loci BM 4311 (+0.45) y BMC 1222 (-0.15); un valor negativo significa un aumento en la heterocigosidad, lo cual quiere decir que el último locus tiene mayor nivel de heterocigosidad en BON que el primero. En conclusión, el análisis con Fis es un buen indicativo de la variabilidad que presentan algunas razas, específicamente BON como se mostró con la medida de los otros parámetros (npa y Ho).

Análisis filogenético

En la Tabla 6 se presentan las distancias genéticas entre las razas taurinas analizadas y la raza externa Cebuína utilizada en el trabajo, que varían de 0.07 para Ch a 1.65 para R; lo anterior significa que Ch está más cerca genéticamente a C y que R sería la raza criolla más alejada del C. No se observa una relación entre el valor de distancia genética con respecto al C, ya que en Ca y CCC se analizaron solamente cuatro individuos, con distancias genéticas de 0.32 y 0.36, respectivamente. Esto puede significar que el número de muestras no está alterando los resultados.

Al comparar las razas taurinas entre sí, la distancia genética varió desde -0.21 entre BON y SM hasta 1.61 entre Ca y R. No hay una explicación lógica cuando se hace referencia a distancias genéticas negativas y sería necesario tomarlas como cero, que significa identidad genética. Para SM todas las distancias fueron negativas; en este caso puede estar influyendo tanto el bajo número de muestras como la diferencia en el número de loci analizados por raza. La Figura 2 representa un árbol filogenético construido a partir de las distancias genéticas representadas en la Tabla 6, utilizando el algoritmo de 'neighbour-joining' (Nei, 1987) y las frecuencias alélicas de sólo cinco microsatélites (BM 1225, BM 4513, BMC 1222, COW 9 y MAF 70); no se incluyeron los loci BM 4311 y BM 6501 debido a que éstos sólo se tipificaron para BON y no afectarían para nada el árbol final. Las distancias negativas las toma el Programa como cero, por defecto. El árbol muestra el agrupamiento de cinco razas taurinas en una rama y en la otra, agrupadas con la raza externa Cebuína se encuentra a Ca y Ch, lo cual puede ser indicativo de un mestizaje de estas dos razas con C. En relación a las razas criollas que se agruparon, no parece haber correlación con agrupamiento geográfico: Se esperaría agrupamiento entre CCC y R, lo mismo que entre SM y Ca y lo más notorio es la distancia genética de cero entre BON y SM que se esperaba amplia. Lo anterior, puede significar que el agrupamiento de estas razas sea por origen histórico y no por distribución geográfica, lo

Tabla 5. Heterocigosidades encontradas en razas criollas colombianas y en Cebú

POBLACIÓN	He	Ho	F
Blanco Orejinegro	0.77	0.69	0.11
Romosinuano	0.32	0.42	-0.38
Sanmartinero	0.86	0.96	-0.26
Costeño con cuernos	0.84	0.52	0.42
Chino Santandereano	0.79	0.40	0.55
Hartón del Valle	0.73	0.33	0.60
Casanareño	0.46	0.25	0.50
Cebú	0.55	0.54	0.04
PROMEDIO	0.67	0.52	0.28

Tabla 6. Matriz de distancias genéticas encontradas en la caracterización de las razas bovinas criollas y colombianas.

	BON	R	SM	CCC	Ch	H	Ca	Ce
BON	0							
R	0.1787	0						
SM	-0.2119	0.1242	0					
CCC	0.2647	0.2836	0.0600	0				
Ch	0.5420	0.2915	0.2706	-0.0873	0			
H	-0.0314	-0.1601	-0.0185	-0.1606	-0.1817	0		
Ca	1.6014	1.6061	1.5406	0.0900	0.5177	1.1894	0	

cual es necesario corroborar aumentando tanto el número de marcadores como el de muestras por raza. El mestizaje de Ca y Ch con C puede ser debido al manejo de estos dos hatos, ya que los hatos manejados por ICA y Corpoica han sido conservados en cuatro núcleos (BON, R, CCC y SM) en su estado de pureza aparente, por lo menos en lo relacionado con el mestizaje con C e igualmente la Secretaría de Agricultura del Valle ha conservado el H.

Conclusiones y Recomendaciones

- Bajo los parámetros utilizados (siete marcadores y un número variable de muestras por raza) se concluye que hay una adecuada diversidad genética en el gcc.
- Se encontraron cuatro alelos nuevos para el locus BM4513, no reportados en los mapas consultados, con 133 a 139 pares de bases y para el locus BMC1222 el alelo 270.
- Se recomienda continuar este trabajo utilizando más marcadores (se propone uno por cromosoma) y un mayor número de muestras de individuos lo menos emparentados posible por marcador; se podría dilucidar el por qué de la distancia similar para BON y SM con la tipificación de una raza intermedia como la Berrenda Española; la razón del carácter topo del R con estudios de ligamiento al cromosoma 1 en la razas R, CCC y Aberdeen Angus y finalmente, definir el mestizaje de las razas Ca y Ch por medio de estudios del cromosoma Y y/o DNA mitocondrial en ellas y en el C.

Agradecimientos

El autor principal desea dejar constancia de su agradecimiento al doctor Carlos Jaime Tobón Yepes, Coordinador del Grupo Pecuario, Regional Cuatro de Corpoica por el apoyo logístico y científico para la elaboración de este artículo; igualmente al doctor Marco Antonio Suárez Tronco por su importante aporte en la revisión del documento.

Figura 2. Árbol filogenético del ganado criollo colombiano. Agrupación de cinco razas criollas en una rama; posible mestizaje de Ca y Ch con Cebú en la otra rama. Distancias genéticas similares en BON y SM.

BIBLIOGRAFÍA

Arboleda, O. 1980. El ganado Blanco Orejinegro. Suplemento Ganadero. Carta Ganadera. Italgraf, Bogotá, Colombia. 1 (1): 42pp.

Arboleda, U., S. & Cáceres F., A. 1998. Evaluación del comportamiento productivo de la raza Blanco Orejinegro hasta los 18 meses de edad en el Centro de Investigaciones El Nus (1939-1991). Medellín. Tesis (Zootecnistas). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 140pp.

Banco Ganadero. 1986. Valor genético y productivo de los bovinos criollos. Bogotá, Colombia. 14pp.

Bannikova, L. V. & Zubareva, L. A. 1995. Genetic Structure of Some Native and Commercial Breeds of Cattle (*Bos taurus*) from Eurasia. Moscow Rus. J. Gen. 31 (5): 597-607.

Barker, J. S. F., Bradley, D. G., Fries. R., Hill, W. G., Nei, M. & Wayne, R. K. 1993. An integrated global programme to establish the genetic relationship among the breeds of each domestic animal species. An. Pr. & Pub. H. Pp 1-32. FAO. Rome.

Bishop, M. D; Kappes, S. M.; Keele, J. W.; Stone, R. T.; Sunden, S. L. F.; Hawkins, G. A.; Toldo, S. S.; Fries, R.; Grosz, M. D.; Yoo, J. & Beattle, C. W. 1994. A genetic linkage map for cattle. Genetics 136: 619-639.

Carvajal C., L. G. & Bermúdez G., N. 1998. Estimación de la diversidad genética intra e interespecífica de las razas bovinas criollas colombianas. Medellín. Tesis (Zootecnistas). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 75pp.

CEGA, 1987. Historia de la ganadería en Colombia. Coyuntura Agropecuaria. Bogotá, Colombia. Nª 14.

Ciampolini, R.; Moazami-Goudarzi, K.; Vaiman, D.; Dillmann, C.; Mazzanti, E.; Foulley, J-L.; Leveziel, H. & Cianci, D. 1995. Individual Multilocus Genotypes Using Microsatellite Poly-

morphisms to Permit the Analysis of the Genetic Variability Within and Between Italian Beef Cattle Breeds. J. Anim. Sci. 73: 3259-3268.

Delgado, B., F. A. 1996. Ganado Criollo Casanareño. Plegable de Divulgación. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Económico del Casanare.

Estrada, J. L.; Ariza, F.; Ossa, J. E.; Ruiz-Linares, A.; Derr, J. N. & Davis, S. K. 1994. Molecular and Population Genetics of Colombian Criollo Cattle; a proposal for research. 29pp.

Falconer, D. S. 1981. Introducción a la Genética Cuantitativa. 11ªImp., Continental , México, México. 430pp.

Franco C., C. E. y Mejía, M., A. 1996. Evaluación de algunos caracteres productivos y reproductivos en el ganado Blanco Orejinegro (BON), Cebú y sus cruces en el Centro de Investigaciones El Nus. Facultad Ciencias Agropecaurias, Universidad de Caldas, Manizales. 237pp. Mecan.

Hartl, D. L. 1988. A Primer of Population Genetics. Sinauer Association, Sunderland, Mass., USA. 304 pp.

Hernández B., G. 1997. Estrategia de apareamiento para evitar la consanguinidad (inbreeding) en animales. Plegable. Corpoica.

Lasley, J. F. 1970. Genética del Mejoramiento del Ganado Tradicional. Gustavo Reta, México, México. 378pp.

Kappes, S. M.; Keele, J. W.; Stone, R. T.; McGraw, R. A.; Sostengard, T. S.; Smith, T. P. L.; López-Corrales, N. L. & Beattle, C. W. 1997. A Second - Generation Linkage Map of the Bovine Genome. Genome Research, Cold Spring Harbor Lab. Press., 7: 235-249.

Ma, R. Z.; Beever, J. E.; Da, Y.; Green, C. A.; Russ, I.; Park, C.; Heyen, D. W.; Everts, R. E.; Fisher, S. R.; Overton, K. M.; Teale, A. J.; Kemp, S. J.; Hines, H. C.; Guerin, G. & Lewin, H. A. 1996. A male linkage map of the cattle (*Bos taurus*) genome. J. of Heredity. 87: 261-271.

Machugh, D. E.; Loftus, R. T.; Bradley, D. G.; Sharp, P. M. & Cunningham, P. 1994. Microsatellite DNA variation within and among European cattle breeds. Great Britain. Proc. R. Soc. Lond. 256: 25-31.

Machugh, D. E.; Shriver, M. D.; Loftus, R. T.; Cunningham, P. & Bradley, D. G. 1997. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phyogeography of Taurine and Zebu Cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). Genetics 146: 1071-1086.

Moazami-Goudarzi, K.; Laloe, D.; Furet, J. P. & Grosclaude, F. 1997. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. Animal Genetics 28: 338-345.

Moreno O., F. L. 1994. Ganado de doble propósito en El Nus. Corpoica.Regional 4.

Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York. USA.

Philipson, J. 1992. Genetic resources of cattle. *In:* The management of global animal resources. FAO, Rome, pp 129-156.

Pinzón M., E. 1984. Origen de las razas bovinas criollas colombianas. *En:* Historia de la ganadería bovina en Colombia. Suplemento Ganadero, Carta Ganadera, Italgraf, Bogotá, Colombia. pp 55-103.

Pinzón M., E. 1996a. Historia de la ganadería en Colombia; Ganado Blanco Orejinegro. Rev. Costa Ganadera 8 (30): 6-10.

Pinzón M., E. 1996b. Historia de la ganadería en Colombia; Ganado Sanmartinero. Rev. Costa Ganadera 8 (28): 6-8, 43.

Ramírez A., B. 1991. Origen del Ganado Blanco Orejinegro. Mecan. Presentado a Asobon. Pereira, Colombia. 28p.

Sambrook, J.; Fritsche, E. & Maniatis, T. 1989. Molecular Cloning: a Laboratory Manual 2nd ed Cold Spring Harbor, New York; Cold Harbor Laboratory Press. USA.

Warwick, E. J. & Legates, J. E. 1992. Cría y Mejora del Ganado. 8ed. MC Graw Hill, México, México. 344p.