ARTÍCULO CIENTÍFICO

Gloria Patricia Barrera¹, Rodrigo Martínez¹, Rafael Torrijos² y Francisco Ramón³

ABSTRACT

The molecular characterization of a population of Caqueteño cattle and their phylogenetic relationship with Colombian creole cattle breeds

The object of this work was to determine whether a population of Caqueteño creole cattle (CAC) represented a racial grouping different to other Colombian creole populations. DNA was thus extracted from blood-samples taken from 80 CAC animals; 126 samples of DNA from six Colombian creole breeds, 19 DNA samples from zebu animals (Bos indicus) and 14 from an autochthonous Spanish breed were also used. 14 micro-satellite molecular markers were used for characterising the population, their genotypes being identified by PCR and electrophoresis. A greater average number of alleles (ana=9.21) was found in the CAC population than in the other breeds being evaluated, varying from ana=4.57 to ana=8.57 for Sanmartinero and BON breeds, respectively. Endogamy, defined by fixation index (Fis), was similar to other creole breeds (0.14), coming within parameters reported in other paper. The smallest genetic distance values were found between the CAC population and BON (0.15) and Romosinuano (0.17) breeds, though a considerable distance was found from the zebu breed (0.27). Genotyping analysis generally revealed that the CAC biotype presented racial uniformity, the zebu breed having moderate introgression, meaning that it could be considered to be a well defined racial group which could be used for a conservation program.

Key words: Caqueteño cattle, molecular markers, animal genetics, creole cattle.

Recibido: enero 13 de 2006. Aceptado: junio 24 de 2006.

1. Investigadores master asistente, grupo de Recursos Genéticos y Biotecnología Animal, Centro de Investigación Tibaitatá, CORPOICA. e-mails: gbarrera@corpoica.org.co, ramartinez@corpoica.org.co
2. M.V. Gerente Comité Departamental de Ganaderos del Caquetá, Florencia. e-mail: rtorrijos@telecom.com.co
3. M.V. Directivo Comité Departamental de Ganaderos del Caquetá, Florencia.

Caracterización molecular de una población de ganado Caqueteño y su relación filogenética con razas bovinas criollas colombianas

RESUMEN

El objetivo fue determinar si una población de la raza bovina criolla Caqueteño (CAQ) representa una agrupación racial diferente de las demás poblaciones criollas bovinas colombianas. A tal fin se realizó extracción de ADN a partir de muestras de sangre tomadas a 80 animales Caqueteño; además, se usaron 126 muestras de ADN pertenecientes a seis razas criollas colombianas, 19 muestras de ADN tomadas de animales Cebú (Bos indicus) y 14 de una raza española autóctona. Para caracterizar la población se utilizaron 14 marcadores moleculares tipo microsatélite para los cuales se identificaron los genotipos mediante PCR y electroforesis. En la población CAQ se encontró un número promedio de alelos (NPA= 9,21) superior a las demás razas evaluadas, que variaron entre NPA= 4,57 y NPA= 8,57 para las razas Sanmartinero y BON, respectivamente. La endogamia, definida mediante el índice de fijación (Fis), fue similar a otras razas criollas (0,14) y se encuentra dentro de los parámetros reportados en otros trabajos. Los menores valores de distancias genéticas fueron encontrados entre la población CAQ y las razas BON (0,15) y Romosinuano (0,17) y se constató una distancia considerable con la raza Cebú (0,27). En general, los análisis genotípicos muestran que el biotipo CAQ presenta uniformidad racial con introgresión moderada de la raza cebú, por lo que puede considerarse como un grupo racial definido que puede ser utilizado para un programa de conservación.

Palabras clave: ganado Caqueteño, marcadores moleculares, genética animal, ganado criollo.

INTRODUCCIÓN

El BOVINO CRIOLLO americano desciende directamente de los animales que llegaron en el segundo viaje de Colón. Coinciden los historiadores en que los antepasados del bovino criollo que poblaron el sur de Estados Unidos y América Latina, arribaron en un período de no más de 50 años desde el descubrimiento y su número no alcanzó más de 1.000 cabezas (Rouse, 1977).

La primera importación de vacunos a Colombia la inició Rodrigo de Bastidas desde La Española hacia Santa Marta en su expedición de colonización de 1525. En esta forma se originó el núcleo ganadero colombiano de la Costa Atlántica que se considera como el primero y más importante desde el punto de vista cronológico. Se realizaron importaciones posteriores desde Venezuela, fuente que pobló a Colombia por el Oriente y dio origen a la ganadería de los Llanos Orientales. Otra vía importante de propagación de ganados fue el sur (hoy República del Ecuador). La etapa de la 'ganaderización' de la Amazonia caqueteña también ocurrió durante la época de la colonia, cuando misioneros francis-

canos y capuchinos fundaron pueblos y misiones en los actuales departamentos de Caquetá y Putumayo. La aculturización de los indígenas de la zona, no solamente se fundamentó en la introducción de una nueva cultura, religión e idioma, sino también sobre formas de trabajar la tierra con cultivos sedentarios y la cría y explotación de nuevas especies animales entre ellas el ganado vacuno. Estas poblaciones pueden haber sido el origen de lo que actualmente se conoce como la raza criolla Caqueteña. En el presente, se cuenta con información limitada sobre el tamaño y distribución de su población, el estado genético y el grado de cruzamiento con otras razas como el Cebú u otras razas criollas recientemente introducidas en la zona.

De acuerdo con la FAO, el primer paso para la conservación es el conocimiento detallado de las poblaciones que pueden ser consideradas como razas; no obstante, en muchos países la documentación sobre dichas líneas es inexacta, incompleta o inexistente; además, algunas razas pudieron nunca haber sido documentadas o reconocidas. Así, el mayor problema consiste en determinar si una población de ganado representa

una raza distinta. Para ello se pueden utilizar herramientas propias de la genética cuantitativa, así como indagaciones moleculares; en efecto, una de las estrategias es evaluar la variabilidad genética de diversas poblaciones, la cual puede ser estudiada a través de la estimación de la varianza genética de caracteres cuantitativos y el análisis de datos de pedigrí, lo que se complementa con la descripción de genes visibles y marcadores genéticos en la población, tales como los marcadores microsatélites (Gutiérrez et al., 2003). En este sentido, Barker (1999) ha indicado que la diversidad filogenética (basada sobre marcadores tipo microsatélite) proporciona el mejor criterio objetivo para tomar decisiones iniciales de conservación para razas de ganado nativas; así, las razas taxonómicamente distintas deberían ser favorecidas para programas de conservación.

De acuerdo con lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue realizar estudios genéticos mediante marcadores



Vaca Caqueteña.



Toro Caqueteño.



Grupo de ejemplares Caqueteño en su ambiente natural.

tipo microsatélite en una población de ganado Caqueteño, y compararlos con otras seis razas criollas colombianas, una raza española y la raza Cebú Brahman, para determinar parámetros de genética poblacional y establecer si esta población representa una agrupación racial diferenciada de las demás poblaciones criollas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población muestral

Se seleccionaron 80 individuos que se consideraron poseedores del biotipo Caqueteño (CAQ), pertenecientes a siete fincas ubicadas en el departamento del Caquetá, los cuales se agruparon en cuatro subpoblaciones de acuerdo con sus relaciones genealógicas, así: FH (n= 33), LP (n= 20), CE (n= 12) y SI (n= 15). Los resultados fueron comparados con información genotípica de 126 animales no emparentados pertenecientes a las seis razas criollas colombianas: Romosinuano (Roмo, n= 40), Costeño con Cuernos (CCC, n= 11), Blanco Orejinegro (BON, n= 40), Sanmartinero (SM, n= 24), Casanareño (CAS, n= 11), Hartón del Valle (HV) (n= 10). Adicionalmente, los datos se compararon con 19 individuos no emparentados de la raza Cebú Brahman colombiana (CEBÚ) (Bos indicus) y con 14 animales no emparentados de la raza española Pirenaica (ESP). A los animales seleccionados se les tomó una muestra de sangre periférica en tubos con EDTA y se realizó extracción de ADN de acuerdo con protocolos estándar (Sambrook et al., 1989).

Identificación de genotipos

Se utilizaron 14 marcadores tipo microsatélite tomados del grupo de sistemas genéticos recomendados por la FAO y recopilados por Bradley (1996) para estudios de variabilidad genética (етн10, етн225, вм1818, вм1824, нег13, нег5, HEL1, INRA005, INRA063, BM757, BM1314, вм827, вм8125 у вм6526). Las características de estos marcadores incluyen: buena distribución a lo largo del genoma, alto grado de polimorfismo (más de cuatro alelos), no existencia de ligamiento entre marcadores, disponibilidad de datos procedentes de estudios previos y la posibilidad de realización en múltiplex.

Las condiciones generales de amplificación incluyeron 50 ng de ADN genómico bovino, 200 µM de dNTP (Pharmacia Biotech®, USA), 0,5 µM de cada uno de los iniciadores directo y reverso para cada marcador, 2,25 mM de MgCl₃ (Promega[®], USA) y 2 U de Taq ADN polimerasa (Promega® M1665) para un volumen total de 25 µl de reacción. Los marcadores eth10 y eth225; bm1818 y ${
m Bm}1824$; inra $005~{
m y}$ inra 063; ${
m Hel}13$, ${
m Hel}5$ Y HEL1 fueron amplificados en reacciones de multiplex bajo las siguientes condiciones: una denaturación inicial a 94°C por 3 min y 10 ciclos programados así: denaturación a 92°C por 30 seg, anillaje por 1 min con disminución de 1°C en cada ciclo, y 19 ciclos con denaturación a 92°C, anillaje por 40 seg, con adición de 1 seg en cada ciclo. La amplificación se realizó en un termociclador PTC 100 (MJ Research®, Inc.). Los productos amplificados fueron separados y visualizados en geles de poliacrilamida al 6% (59:1) en condiciones denaturantes (úrea 7M) a 1.800 Voltios por 3 h. Como referencia se utilizó un marcador de peso molecular de 10pb (Invitrogen Cat.® 10821). Los geles fueron teñidos con nitrato de plata. Para la captura de las imágenes se utilizó el programa GeneSnap de Syngene® y para la determinación del tamaño de los alelos se utilizó el programa GeneTools® de la misma casa comercial.

Análisis de la información

Para los análisis de genética de poblaciones se utilizó el programa GenePop® versión 3.3 (Laboratoire du Genetique et Environment, Monpellier, France), el cual permitió calcular los valores de Ho y He (heterocigocidad observada y esperada, respectivamente), el índice de fijación (F_{is}), el equilibrio de Hardy-Weimberg, el desequilibrio gamético y el cálculo de las frecuencias alélicas. Para el análisis de correspondencia se utilizó el programa Genetix® (Laboratoire Génome, Populations et Interactions, CNRS-UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France) (Belkhir et al., 1996). Las distancias genéticas se calcularon mediante el módulo Gendist del programa Phylip[®] (Felsenstein, 1993), con un proceso previo de bootstraping de 10.000 remuestreos.

Se calculó la Distancia Genética Estándar (Ds) de Nei (1972) y se comparó con la metodología de Cavalli-Sforza (1969), ambas indicadas para poblaciones con

tiempos cortos de divergencia. La reconstrucción de los árboles filogenéticos se realizó por medio de la metodología Neighbor-Joining (Saitou v Nei, 1987) incluida en el mismo programa. Estos análisis se realizaron en las muestras de la población CAQ y se compararon con los resultados obtenidos en las demás razas en estudio; así mismo, la población CAQ se analizó como un conjunto de subpoblaciones con el objetivo de determinar cuales podrían estar más cercanamente relacionadas con otras razas como la Cebú.

Para estimar la pureza racial de las poblaciones se utilizó un modelo (Q, coeficiente de membresía) basado en un método de agrupamiento que permite inferir la estructura de la población usando datos de genotipos a partir de marcadores no ligados (Pritchard et al., 2000). Esta metodología asigna individuos a poblaciones e identifica migrantes e individuos mezclados. Se asume un modelo en el cual hay k poblaciones cada una de las cuales se caracteriza por un perfil de frecuencias de alelos en cada locus, cada individuo se asigna con una probabilidad a una población o conjuntamente a dos o más poblaciones si su genotipo indica que es un individuo mezclado. Este modelo asume que los loci están en equilibrio de Hardy-Weimberg dentro de las poblaciones, así como en equilibrio de ligamiento.

RESULTADOS

En el presente trabajo se identificaron un total de 129 alelos en los 259 animales estudiados. El número promedio de alelos (NPA) por locus fue de 9,21; los marcadores вм827 e inra005 tuvieron el menor número con seis alelos, mientras los mayores, en вм6526, вм757 у етн10, con 14, 12 y 12 alelos, respectivamente (Tabla 1). El NPA por raza muestra un promedio general de 6,34, con los mayores promedios en las poblaciones CAQ (9,21) y BON (8,57) y el menor en la raza SM (4,57) (Tabla 2).

Los mayores valores de Ho (heterocigocidad observada) se presentaron en los locus BM6526, INRAO05 y HEL13, mientras que en los locus BM818 y HEL5 presentaron los menores valores (Tabla 1). Por su parte, el promedio de Ho para todas las razas fue de 0,61, donde la raza CAS presentó el mayor valor (0,73) y los menores valores se presentaron en las razas Cebú (0,52), BON (0,49) y Rомо (0,44). La raza CAQ presentó valores ligeramente superiores al promedio general (0,66) (Tabla 2).

El valor promedio del índice de fijación (Fia) para toda la población en estudio fue de 0,14, mientras se generó un valor negativo (-0.09) en la raza ESP debido a que el valor de Ho fue más alto que He (0.65 > 0.59), lo que muestra un exceso de heterocigotos. Los valores más altos de F_{is} se encontraron en las razas BON, Cebú y Roмo con 0,31, 0,28 y 0,25, respectivamente (Tabla 2).

Análisis de subpoblaciones en la raza Caqueteño

Cuando se analiza cada una de las subpoblaciones (FH, LP, CE y SI) que componen la población CAQ, se observa un NPA superior a la raza Cebú (6,21) en tres de las subpoblaciones (FH, LP y SI) y NPA levemente inferior en la subpoblación CE. Similar situación se encuentra para He y Ho, que generalmente son superiores en las subpoblaciones CAQ. Los coeficientes de consanguinidad presentan valores menores a la raza Cebú (Tabla 3).

Tabla 1. Promedio de alelos por locus, heterocigocidad esperada y observada e índice de fijación (consanguinidad) para 14 marcadores en la raza Caqueteño.

Marcador	NPA	He	Но	\mathbf{F}_{is}	
ETH10	12	0,88	0,58	0,39	
ETH225	10	0,83 0,72		0,12	
BM1818	9	0,76	0,44 0		
BM1824	9	0,80	0,72	0,11	
HEL13	7	0,76	0,74	0,02	
HEL5	8	0,77	0,44	0,43	
HEL1	8	0,81	0,73	0,09	
INRA005	6	0,72	0,78	-0,08	
INRA063	7	0,70	0,68	0,68 0,02	
BM1314	11	0,81	0,66	0,17	
BM827	6	0,58	0,60	-0,04	
BM8125	10	0,71	0,60	0,15	
BM6526	14	0,84	0,83	0,01	
BM757	12	0,76	0,66	0,13	
	9,21	0,77	0,66	0,14	

NPA: número promedio de alelos; He: heterocigosidad esperada; Ho: heterocigosidad observada; F, : índice de fijación (como coeficiente de

Tabla 2. Promedio de alelos por raza, heterocigocidad esperada y observada, y coeficiente de consanguinidad por raza.

Raza	NPA	He	Но	F _{is}
BON	8,57	0,72	0,49	0,31
CAQ	9,21	0,77	0,66	0,14
CAS	6,21	0,79	0,73	0,07
CCC	5,07	0,71	0,65	0,08
Cebú	6,85	0,73	0,52	0,28
ESP	5,00	0,59	0,65	-0,09
HV	5,14	0,74	0,71	0,04
ROMO	6,5	0,58	0,44	0,25
SM	4,57	0,73	0,66	0,11
promedios	6,34	0,71	0,61	0,14

NPA: número promedio de alelos; He: heterocigosidad esperada; Ho: heterocigosidad observada; F_s: índice de fijación (como coeficiente de consanguinidad); BON: Blanco Orejinegro; CAQ: Caqueteño; CAS: Casanareño; CCC: Costeño con Cuernos; ESP: Pirenaica (raza española); HV: Hartón del Valle; Romo: Romosinuano; SM: Sanmartinero.

Análisis de la diversidad

Para el análisis de diversidad se utilizó la metodología descrita en el programa GenPop®. En esta opción se computa la diversidad dentro de individuos (1-Quintra) y entre individuos dentro de poblaciones (1-Quinter). Los correspondientes índices de fijación (Fis) también fueron estimados (Tabla 4). En este caso se encontró que CAQ presentó valores cercanos al promedio general (0,66 y 0,76 para diversidad intra e inter, respectivamente) y muy superiores a las razas Cebú y Roмo que presentaron los menores valores de diversidad, tanto dentro de individuos (0,44 y 052, respectivamente), como entre individuos dentro de las poblaciones (0,59 y 0,73, respectivamente). Las frecuencias alélicas estimadas para cada locus muestran que CAQ posee pocos alelos específicos de la raza, pues generalmente se dieron en muy bajas frecuencias (datos no mostrados).

Análisis multivariado

En el análisis de correspondencia con las razas como fuente de variación (componentes principales por razas), cada uno de los dos ejes (dimensiones 1, 2 y 3) contribuyeron proporcionalmente con 25, 19 y 13% de la inercia total. Las razas Cebú, ESP y CAS se ubicaron espacialmente lejos del centroide, mientras las demás razas criollas se agruparon cerca del centroide, en las dimensiones 1 y 2 (Figura 1).

Cuando se desagrega cada raza en los individuos que la componen se puede ver que los pertenecientes a las razas BON, CAQ y Romo se agrupan cercanamente y alrededor del centroide en cada una de las tres dimensiones, lo cual se explica porque comparten una proporción importante de sus alelos y en frecuencias similares; por su parte, los individuos de las razas ESP y Cebú se encuentran muy lejos del centroide en las dimensiones uno y dos, lo que indica que estas dos razas presentan muy pocos alelos en común y con frecuencias muy dispares.

Las razas CCC, SM y HV presentan una mayor dispersión de su población,

Tabla 3. Número promedio de alelos, heterocigocidades esperada y observada, e índice de fijación (como coeficiente de consanguinidad) por cada subpoblación de Caqueteño y en la raza Cebú

	NPA	He	Но	F _{is}
CE	5,79	0,74	0,71	0,03
FH	6,93	0,73	0,67	0,08
LP	6,50	0,73	0,62	0,15
SI	6,50	0,73	0,64	0,12
Cebú	6,21	0,68	0,50	0,26

PA: número promedio de alelos; He: heterocigosidad esperada; Ho: heterocigosidad observada; Fis: índice de fijación (como coeficiente de consanguinidad).

Tabla 4. Diversidad dentro de individuos (1-Quintra) y entre individuos dentro de poblaciones (1-Quinter).

Población	1-Qintra	1-Qinter	F _{is}
BON	0,495812	0,728663	0,3196
CAQ	0,663138	0,768360	0,1369
CAS	0,754546	0,801467	0,0585
CCC	0,656863	0,707890	0,0721
Cebú	0,525362	0,739333	0,2894
ESP	0,660819	0,595532	-0,1096
HV	0,708333	0,731076	0,0311
Rомо	0,440980	0,590536	0,2533
SM	0,565217	0,659612	0,1431

BON: Blanco Orejinegro; CAQ: Caqueteño; CAS: Casanareño; CCC: Costeño con Cuernos; ESP: Pirenaica (raza española); HV: Hartón del Valle; ROMO: Romosinuano; SM: Sanmartinero.

Tabla 5. Matriz de distancia genética estándar de Nei (Ds) entre CAQ, seis razas criollas colombianas, la raza Pirenaica autóctona española y la raza Cebú (Nei, 1972).

Razas	BON	CAQ	CAS	ccc	Cebú	ESP	HV	Rомо	SM
BON	0								
CAQ	0,1566	0							
CAS	0,3706	0,3231	0						
CCC	0,3718	0,3057	0,38	0					
CEBU	0,2954	0,2774	0,41	0,63	0				
ESP	0,4125	0,4179	0,34	0,31	0,604	0			
HV	0,4287	0,4733	0,45	0,45	0,69	0,63	0		
ROMO	0,1651	0,1792	0,39	0,32	0,484	0,47	0,456	0	
SM	0,3809	0,3909	0,4	0,28	0,807	0,24	0,328	0,346	0

BON: Blanco Orejinegro; CAQ: Caqueteño; CAS: Casanareño; CCC: Costeño con Cuernos; ESP: Pirenaica (raza española); HV: Hartón del Valle; ROMO: Romosinuano; SM: Sanmartinero.

pero siempre alrededor del centroide en las tres dimensiones, lo que indicaría una mayor variación genética en estas poblaciones (Figura 2).

El análisis de componentes principales según subpoblaciones de la raza CAQ (FH, CE, SI y SF) mostró que éstas se agruparon conjuntamente cerca del centroide y muy lejos de las poblaciones de las razas SM, Romo y Cebú, las cuales

se ubicaron lejos del centroide en las tres dimensiones, pero cada una en una posición diferente (Figura 3).

Análisis filogenético

A partir del cálculo de las frecuencias alélicas se estimaron las distancias genéticas estándar (Ds) utilizando la medida propuesta por Nei (1972), la cual presentó resultados similares a los obtenidos

⁴ En genética, la inercia mide la dispersión de la información; por tanto, la zona de inercia máxima será aquella en la que los puntos se encuentran más localizados.

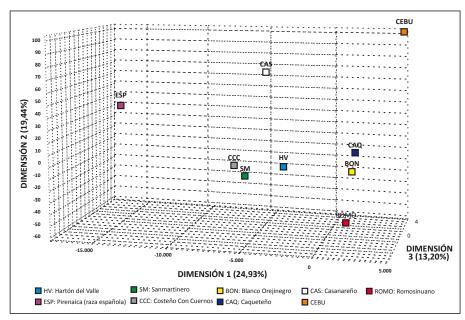


Figura 1. Análisis de componentes principales por razas. HV: Hartón del Valle; ESP: Pirenaica (raza española); SM: Sanmartinero; CCC: Costeño con Cuernos; Romo: Romosinuano; BON: Blanco Orejinegro; CAQ: Caqueteño; CAS: Casanareño; Cebú.

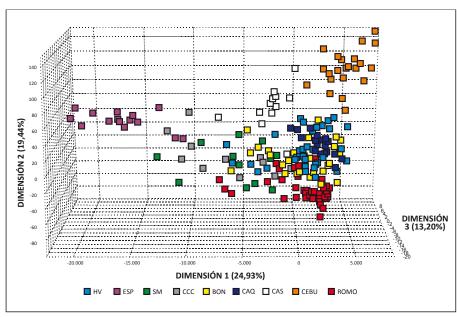


Figura 2. Análisis de componentes principales por individuos de cada raza. HV: Hartón del Valle; ESP: Pirenaica (raza española); SM: Sanmartinero; ССС: Costeño con Cuernos; Roмо: Romosinuano; BON: Blanco Orejinegro; CAQ: Caqueteño; CAS: Casanareño; Cebú.

usando la metodología de Cavalli-Sforza (1969) (Figura 4). La menor medida de distancia genética calculada por el método de Nei se encuentra entre las poblaciones de las razas BON y CAQ (0,15), seguida por el valor de distancia encontrado entre las razas Roмo y BON (0,16) у CAQ у Rомо (0,17). Los mayores valores de distancia siempre fueron entre la raza Cebú Brahman y otras razas como CCC (0,63), HV (0,69) y SM (0,80) (Tabla 5).

En el análisis filogenético las matrices de distancia obtenidas por la metodología de Nei (1972) y Cavalli-Sforza (1969), arrojaron topología muy similar (Figura 4). En los dos casos el primer grupo lo formaron las razas BON, CAQ y Rомо, otro grupo más lejano lo formaron las razas ESP, CCC y las razas SM y HV. Sin embargo, cuando se utiliza distancia de Cavalli-Sforza (1969) las razas CAS y HV forman un grupo más cercano con las razas BON, Roмo y CAQ que con la raza

CCC, lo cual es lógico dada su diferencia racial y geográfica.

Análisis de estructura de la población

Respecto de la pureza racial de esta población, en la Figura 5 se hace una representación de las estimaciones de Q (coeficiente de membresía) para cada individuo ubicado en cada cluster o raza; cada individuo se representa como una pequeña columna vertical dividida en k segmentos coloreados con longitudes proporcionales a cada uno de los cluster o razas inferidas a las que puede pertenecer. En la parte inferior se muestra el número de orden de cada individuo y la raza a la cual previamente se indicó que pertenencía. En este caso el orden representado es: BON (1), CAQ (2), CAS (3), CCC (4), Cebú (5), ESP (6), HV (7), Rомо (8) y SM (9). Se puede observar que los individuos de la raza BON presentan valores de membresía principalmente para el cluster 6 (mostaza), pero con una alta proporción de individuos con mayor porcentaje de membresía en otros cluster: 3 (azul; 9 individuos, 22,5%), 2 (verde; 6 individuos, 15%), 1 (rojo; 4 individuos, 10%).

La población CAQ presenta un 86% de los individuos de la población con un porcentaje superior a 60% de membresía perteneciente al cluster 2, lo que indica uniformidad genética; a partir de información genotípica, ello permitiría clasificar a un individuo dentro de esta raza con una alta probabilidad de acierto. Para el caso de la raza Roмo, el 67,5% de los individuos (27 de 40) presentaron un porcentaje de membresía superior a 80% perteneciente al cluster 3; el 27,5% (11 de 40) pertenecen al cluster 1, del cual hacen parte la mayoría de los individuos CAS. Por su parte la raza Cebú, presenta el 90% de sus individuos pertenecientes al cluster 5 (rosa), el cual se presenta particularmente en esta raza y está muy poco presente en las demás razas.

DISCUSIÓN

Uno de los grandes retos para los especialistas en recursos genéticos animales es determinar si los individuos de una población pertenecen a diferentes razas o si representan variaciones dentro de la misma raza, como podría ocurrir con los ganados criollos colombianos, algunos de los cuales fenotipicamente son

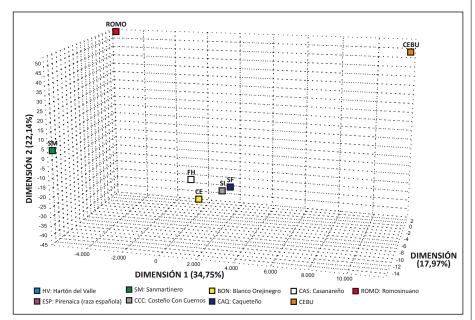


Figura 3. Análisis de componentes principales de las subpoblaciones de CAQ (FH, CE, SI y SF), Romo, SM y Cebú.

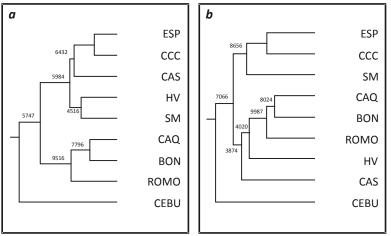


Figura 4. Árboles de relaciones filogenéticas entre CAQ y seis razas criollas colombianas: (HV: Hartón del Valle; ESP: Pirenaica (raza española); SM: Sanmartinero; CCC: Costeño con Cuernos; Romo: Romosinuano; BON: Blanco Orejinegro; CAQ: Caqueteño; CAS: Casanareño; Cebú.), una raza autóctona española (ESP) y la raza Cebú Brahman mediante la estimación de la Distancia Genética Estándar (Ds): a) según la metodología propuesta por Nei (1972) y b) según la metodología de Cavalli-Sforza (1969); ambas con el uso del programa Neighbor-Joining[®].

muy semejantes entre sí y aún con otras razas latinoamericanas. En el sentido estricto de la palabra, una raza designa a una población cerrada o parcialmente cerrada, donde los apareamientos se dan entre los individuos de la población y sus relaciones están documentadas (Sansthan y Kohler-Rollefston, 2005). Así mismo, los miembros de una raza se han desarrollado bajo las mismas presiones de selección y comparten un ancestro común.

Para la FAO, una raza es un grupo sub-específico de animales domésticos con características externas definibles e identificables que dan la posibilidad de separarla por apreciación visual de otros grupos similarmente definidos dentro de la misma especie o un grupo para el cual la separación geográfica y/o cultural de grupos con fenotipos similares, ha conducido a la aceptación de su identidad particular (Ingrassia *et al.*, 2005).

Históricamente las razas se han desarrollado por diferencias geográficas o culturales y para reunir los requerimientos agrícolas y de alimentación humana. Se acepta que las diferencias visuales entre las razas son responsables de la mayoría de la diversidad asociada con cada especie animal doméstica. Así, la raza se asume como

un término cultural más que un término técnico (Scherf, 2000).

Es muy importante revisar estos conceptos si se quieren establecer puntos de diferenciación racial entre una población de animales (CAQ) en una región específica del país como el Piedemonte y los llanos del departamento de Caquetá. En este trabajo se evaluaron 80 animales de siete ganaderías ubicadas en este departamento para definir su estado genotípico, la uniformidad y distancia genética con otras razas criollas colombianas y su posible introgresión con genes de la raza Cebú. Para esto se utilizaron herramientas moleculares y estadísticas que permitieron tener una estimación real de su condición como raza.

En términos generales, para los 14 marcadores analizados el tamaño de los productos alélicos encontrados fue muy cercano a los datos reportados por Barrera *et al.* (2006) en razas criollas colombianas, quienes usaron solamente ocho de los marcadores empleados en este estudio; así mismo, se asemeja a lo reportado por Cañón *et al.* (2001) en razas europeas, quienes coincidieron en utilizar también ocho de los marcadores utilizados en este trabajo (ETH10, ETH225, ETH3, HEL1, HEL5, HRL9, INRA005 e INRA063).

El NPA observado para cada locus en cada raza se considera como un buen indicador de variabilidad genética debido a la diversidad alélica, teniendo en cuenta que la población se halla en equilibrio mutación:deriva. El valor encontrado en el presente trabajo se encuentra dentro de los parámetros recomendados por la FAO, que sugiere al menos cinco diferentes alelos por locus para estimar la distancia genética. Para el caso de CAQ este valor fue muy superior al promedio y al valor recomendado.

La heterocigocidad observada (Ho) es el promedio de heterocigotos observados en la muestra de una población. La Ho promedio encontrada en toda la población CAQ concuerda ampliamente con lo reportado para otras razas criollas colombianas por Barrera et al. (2005) y Bedoya et al. (2002). Por su parte, los valores de Ho reportados por Moreno et al. (2001) se encuentran por debajo de los reportados en los dos estudios citados. En este trabajo los mayores valores de Ho los presentaron las razas CAS y HV, seguidos por CAQ y SM, lo cual indica

una buena variabilidad genética dentro de estas razas.

Los NPA para las cuatro subpoblaciones establecidas de CAQ resultaron uniformes y similares al valor encontrado en la raza Cebú; sin embargo, las heterocigosidades fueron superiores, lo cual demuestra mayor variabilidad en la población CAQ que en la raza CEBU. Adicionalmente, el valor de Ho en CAQ fue similar a reportes en razas autóctonas españolas (Cañón et al., 2001).

La endogamia (debida a cruces entre individuos cercanamente emparentados) está definida por el coeficiente denominado Fis, el cual mide el déficit o exceso de heterocigosis de un individuo, teniendo en cuenta el tipo de apareamiento dentro de su subpoblación (Hartl et al., 1988). Cuando el F_{is} tiende a cero, significa que la población se acerca al equilibrio de Hardy-Weinberg puesto que la Ho es semejante a la heterocigosidad esperada (He) por individuo. En este trabajo, la raza CAQ presentó un valor Fia de 0,14, el cual se encuentra en el promedio de la población de estudio, pero es alto si se tiene en cuenta que se evaluó una gran cantidad de animales de nueve diferentes poblaciones. El valor F_{ic} encontrado en general para toda la población en estudio, y en particular para la raza CAQ, fue similar a los otros estudios reportados para razas colombianas (Moreno et al., 2001; Barrera et al., 2005; Bedoya et al., 2002).

El análisis de las subpoblaciones de CAQ muestra el mayor coeficiente de endogamia en los individuos pertenecientes a la subpoblación LP y el menor valor en los individuos de CE. Estos valores se consideran bajos si se comparan con las poblaciones de raza Cebú, Rомо y BON, lo que demuestra que la población CAQ tiene una variabilidad genética similar a las demás razas criollas a pesar del tamaño de la población.

Los patrones de distribución de la variación genética muestran que CAQ presenta valores superiores al promedio dentro de las razas criollas colombianas, valores que en general concuerdan con los datos reportados por Bedoya et al. (2002). Las razas CAS y HV fueron las que presentaron mayor variabilidad, con los más altos niveles de Ho, NPA y el menor F_{is}, lo cual es similar a lo encontrado por Barrera et al. (2005) pero diferente a lo hallado por Bedoya et al. (2002), lo cual se ve influenciado por el tamaño de muestra y por el origen de las poblaciones de estudio.

El análisis de diversidad dentro de individuos (1-Quintra) y entre individuos (1-Qinter) demostró que la raza CAQ posee valores superiores al promedio de diversidad dentro de individuos y entre individuos de la población, pero por debajo de los valores presentados por CAS y HV.

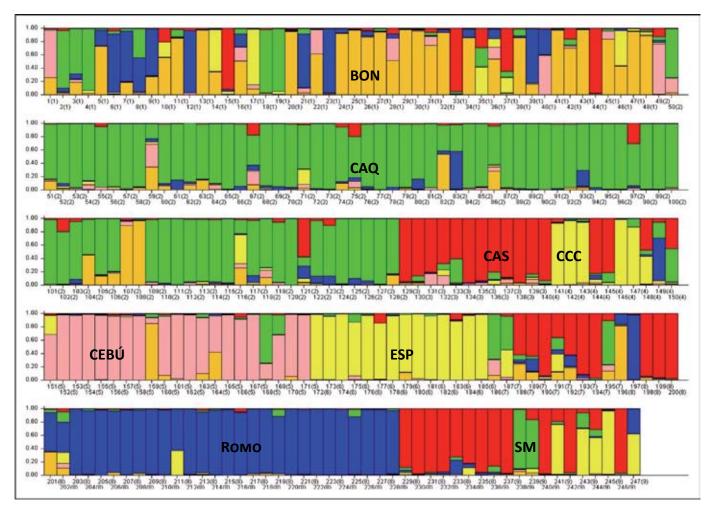


Figura 5. Estimaciones de Q (coeficiente de membresía individual para cada individuo en cada cluster) en individuos de las razas BON (1), CAQ (2), CAS (3), CCC (4), Cebú (5), ESP (6), HV(7), Romo (8) y SM (9). Cada individuo es representado por una línea vertical dividida en k segmentos coloreados, con longitudes proporcionales a cada uno de los *cluster* o razas inferidas a las que puede pertenecer.

Alternativamente al uso de las distancias genéticas, el análisis de correspondencia multivariado estima el efecto de mezcla entre ramas y puede condensar la información de gran número de alelos y locus en pocas variables (Cañón et al., 2001). Este análisis, análogo al de componentes principales, puede representar de manera simultánea las razas y los locus como una nube de puntos en un espacio métrico (ver Figuras 1, 2 y 3). La inercia mide la dispersión de la información; así, la zona de máxima inercia será aquella en la que los puntos se encuentren más agrupados. En este estudio, las poblaciones de origen taurino (Bos taurus) donde se encuentraba CAQ se ubican cerca al centroide y forman la principal nube de puntos, la cual está claramente separada de la raza Cebú (Bos indicus).

Este mismo análisis, tomando en cuenta cada individuo de las poblaciones, muestra agrupamiento cercano al centroide en las dos primeras dimensiones, las cuales cuentan con la mayoría de la variación total. Los mismos resultados se obtienen con las subpoblaciones de CAQ, donde cada uno de los individuos se agrupan en la principal nube de puntos cercana al centroide en la dimensión 1 que controla el 33% de la variación total (Figura 3). Esto demuestra uniformidad genética entre los individuos que conforman la raza CAQ, similar a lo que ocurre con individuos de las razas Roмo y BON, y refleja el aislamiento geográfico que tuvieron estas poblaciones.

Las medidas de distancia genética muestran gran disimilaridad de la raza Cebú con respecto a las razas criollas colombianas, similar a lo reportado por Barrera et al. (2005) y Moreno et al. (2001); esto se debe a la clara división de los animales de origen Bos taurus y los animales de origen Bos indicus (Loftus et al., 1994).

La raza CAQ se relaciona muy cercanamente con las razas BON y Rомо; al parecer la raza BON tiene muy poca influencia en la formación de la raza CAQ si se atiende a su apariencia fenotípica y sus orígenes geográficos, pero genéticamente comparten similitudes en sus frecuencias alelicas, al igual que con la raza Roмo, con la que puede haber presentado algún grado de mestizaje, debido a poblaciones que han sido trasladadas de la Costa Atlántica a la región del Piedemonte caqueteño en los últimos

30 años. El análisis de las metodologías de distancias muestra consistentemente que la raza Cebú forma una rama claramente separada de las demás razas (así lo demuestra el 70% de los remuestreos de bootstraping); así mismo, se observa una relación genética escaza entre las poblaciones Cebú y CAQ, lo que indica que en los animales evaluados no es apreciable el nivel de introgresión genética de Bos indicus sobre CAQ.

Por otra parte, las distancias genéticas que se encuentran entre CAQ y las razas CCC, CAS y Cebú son muy similares en magnitud y provienen de poblaciones de las cuales se esperaría menor relación genética; por el contrario, con las razas SM y HV se presentaron los mayores valores de distancia, lo que indicaría que la raza CAQ no tiene el mismo origen del ganado que entró por los Llanos Orientales desde Venezuela, y puede entonces provenir de las poblaciones que entraron por el sur del país. No obstante, para comprobar lo anterior se requeriría de un estudio más profundo, tanto histórico como genético, mediante el uso de analisis de ADN mitocondrial y del cromosoma Y a fin de determinar el origen materno y paterno de estas poblaciones CAQ.

Las subpoblaciones de CAQ presentan gran similaridad entre ellas, con valores de distancia bajos y un agrupamiento cercano; éstas, con respecto a la raza Cebú, presentan distancia significativa, lo que indica un bajo porcentaje de introgresión genética de Bos indicus sobre CAQ, dado que comparten muy pocos alelos o sus combinaciones. Este supuesto también coincide con el análisis de la estructura de la población utilizando el modelo propuesto por Pritchard et al. (2000) (Q, coeficiente de membresía); en la Figura 5 se ve claramente que las poblaciones de Cebú, ESP, Roмo y CAQ presentan una alta proporción de individuos con valores superiores al 70% de membresía agrupados en un cluster específico, lo que quiere decir que se presenta un perfil de frecuencia de alelos muy similar dentro de cada raza y diferente entre razas, lo que permite agruparlos e identificarlos por su genotipo; ello es una clara evidencia de la uniformidad genética en estas poblaciones. La mayoría de la población de CAQ analizada posee un perfil específico y uniforme, con excepción de ocho animales que pueden presentar perfiles diferentes al de la raza, aunque siempre asociados con una población de origen Bos taurus. No se presentaron en ningún caso animales con alto coeficiente de membresía para el cluster de la raza Cebú.

Este análisis indica la diferenciación genética de la raza bovina CAQ, y en general de las razas criollas y ESP de origen taurino (Bos taurus), con respecto al grupo Cebú (Bos indicus), lo que indica que, a nivel genotípico, no se detecta ningún grado de introgresión genética en las poblaciones CAQ evaluadas.

CONCLUSIONES

La población de bovinos CAQ presenta valores de heterocigocidad (Ho) y endogamia (Fis índice de fijación) muy similares a los de las razas criollas colombianas, lo que demuestra que la población, a pesar de su escaso número, cuenta con variabilidad genética suficiente para iniciar un proceso de recuperación e incremento del censo efectivo. Adicionalmente, la evaluación de distancias genéticas de CAQ la relaciona más cercanamente con las razas BON y Roмo y la separa claramente del Cebú. Este analisis coincide con el estudio de estructura de la población (Q, coeficiente de membresía) donde se encuentra uniformidad genotípica en CAQ y muy pocos animales (>10%) que presenten perfiles diferentes y que los podrían clasificar como de otra raza. De acuerdo con esto, se confirma que la población de animales CAQ es predominantemente Bos taurus y pueden afirmarse que es una población genéticamente uniforme y separada de otras razas criollas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural por la financiación de este trabajo mediante el Convenio No. 040. Además, agradecen la colaboración del Comité de Ganaderos del Caquetá.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

Barker, J.S.F. 1999. Conservation of livestock breed diversity. Agri 25, 33-43.

Barrera, G.P., R. Martínez, J.E. Pérez, N. Polanco y F. Ariza. 2006. Evaluación de la variabilidad genética en ganado criollo colombiano mediante marcadores microsatélites. Animal Genetic Resource Information 38: 35-45

- Bedoya, G., L.G. Carvajal, N.R. Bermúdez y F.L. Moreno. 2002. Estructura molecular y poblacional del ganado criollo colombiano. Rev. Col. Cienc. Pec. 14: 107-118.
- Belkhir, K., P. Borsa, L. Chikhi, N. Raufaste y F. Bonhomme. 1996. Genetix 4.05TM, logiciel sous Windows $^{\text{TM}}$ pour la genetique des populations. Laboratoire Génome, Populations et Interactions, CNRS-UMR 5171, Université de Montpellier II, Montpellier, France. En: http://www.univ-montp2. fr/~genetix/genetix/genetix.htm; consulta: febrero de 2006.
- Bradley, D.G, D. Machugh, E. Cunningham y R.T. Loftus. 1996. Mitochodrial diversity and the origins of African and European cattle. Proc. Natl. Acad. Sci. 93: 5131-5135.
- Cañón, J., P. Alexandrino, I. Bessa, C. Carleos, Y. Carretero, S. Dunner, F. Nuno, D. García, J. Jordana, D. Laloe, A. Pereira, A. Sánchez y K. Moazami-Goudarzi. 2001. Genetic diversity measures of local european beef cattle bredds for conservation purpose. Genetic. Sel. Evol. 33: 311-332.
- Cavalli-Sforza, L.L. 1969. Human diversity. Proc. 12th Intl. Cong. Genet. 3: 405-16.
- Felsenstein J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) University of Washington, Seattle. WA
- GenePopTM version 3.3. Laboratoire du Genetique et Enviroment, Monpellier, France.
- Hartl, G.B., M. Goltenboth, M. Grillitsch y R. Willing. 1988. On the biochemical systematics of the bovine. Biochem. Syst. Ecol. 16: 575-579.
- Ingrassia, A., D. Manzella. y E. Martyniuk. 2005. The legal framework for the management of animal genetic resources. FAO Legislative study 89. pp. 4.
- Loftus, R.T., D.E. Machugh, D.G. Bradley, P.M. Sharp y E. Cunningham. 1994. Evidence for two independent domestications of cattle. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91. 2757-2761.
- Moreno, F. et al. 2001. Diversidad genética y relaciones filogenéticas del ganado criollo colombiano. Revista Corpoica 3: 17-23.
- Nei, M. (1972) Genetic distance between populations. American Naturalist 106: 283-292.
- Pritchard J.K., M. Stephens y P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945-959.
- Rouse, J.E. 1977. The criollo, Spanish cattle in the Americas. University of Oklahoma Press, Norman (OK). pp. 303.
- Saitou, N. y M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4: 406-425.
- Sansthan, P.L. y I. Kohler-Rollefson. 2005 Indigenous breeds, local communities: documenting animal breeds and breeding from a community perspective. Sadri, Rajasthan, India. 66 p.

- Sambrook, J., E.F. Fritsch y T. Maniatis. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 917 p.
- Scherf, B. 2000. One third of farm animal breeds face extinction. New Highlights. Food and Agriculture Organization of the United Nations.