DIFERENCIAS GENÉTICAS ENTRE RAZAS DE GANADO CEBUINO COLOMBIANO (*Bos taurus indicus*) MEDIANTE MICROSATÉLITES.

MIGUEL ADRIANO NOVOA BRAVO
Biólogo, Universidad Nacional de Colombia
Código 190264

Tesis para optar el título de
Maestría en Ciencias – Biología con énfasis en Genética

Dirigido por:
WILLIAM USAQUÉN MARTÍNEZ
Profesor Asociado Instituto de Genética

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias
Departamento de Biología

Bogotá, 2010

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL 3

EFECTOS DE ESTRATEGIAS DE MUESTREO SOBRE LA ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS GENÉTICO POBLACIONALES Y VALIDACIÓN DE BASES DE DATOS GENOTIPÍCAS PARA REALIZAR ESTUDIOS POBLACIONALES EN RAZAS BOVINAS 7

DIFERENCIAS GENÉTICAS ENTRE RAZAS DE GANADO CEBUINO COLOMBIANO (Bos taurus indicus) MEDIANTE EL ANÁLISIS DE INFORMACIÓN GENEALÓGICA Y MOLECULAR (MICROSATÉLITES) 20

ANEXOS. 48

CONCLUSIONES FINALES 54

RECOMENDACIONES 56

AGRADECIMIENTOS 56

INTRODUCCIÓN GENERAL

Las razas de ganado cebú son la base genética del ganado en Colombia. Las características fisiológicas, de resistencia y productivas de este tipo de ganado han permitido adaptarse favorablemente al ambiente de trópico húmedo bajo que compone gran parte del territorio colombiano. Por esto, el cebú y sus cruces han sido ampliamente usados por los ganaderos en nuestro país. Desde el punto de vista genético poblacional, las razas domésticas poseen información que no poseen otras especies, por el mismo proceso de domesticación, lo que ha llevado entre otras a la creación de registros y genealogías. Esta información permite conocer de primera mano muchas de las características poblacionales como el coeficiente de endogamia individual y poblacional F, el intervalo generacional, el tamaño efectivo de la población y la composición actual de la población en cuanto a número de descendientes por reproductor a través de los años. Sin embargo, esta información no es empleada usualmente en los procesos de muestreo de estudios genético poblacionales, ni se ha evaluado el efecto que tienen los métodos de muestreo sobre la estimación de parámetros genéticos y sobre la estimación de subestructura genética. Por otro lado, este tipo de información genealógica es pocas veces comparada con datos genotípicos, ya sea por lo escasez de alguna de los dos tipos de información o por la falta de robustez de o veracidad de la información genealógica, lo cual brinda información complementaría y más detallada de las dinámicas poblacionales de las razas en un país.

En resumen presentaré dos artículos derivados del planteamiento anterior. El primero titulado "EFECTOS DE ESTRATEGIAS DE MUESTREO SOBRE LA ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS GENÉTICO POBLACIONALES Y VALIDACIÓN DE BASES DE DATOS GENOTIPÍCAS PARA REALIZAR ESTUDIOS POBLACIONALES EN RAZAS BOVINAS" en el cual mediante simulaciones con base en datos reales y poblaciones simuladas evidenciamos el efecto que tienen algunas metodologías de muestreo sobre la estimación de parámetros poblacionales y sobre la estructura genética en este caso de razas bovinas. En la literatura no se ha explorado el efecto que tiene la estrategia de muestreo sobre estimaciones de parámetros poblacionales y sesgos en los resultados reportados. Adicionalmente, no se ha explorado una metodología para validar las bases de datos de genotipos existentes en diferentes laboratorios para que sean utilizados en estudios genético-poblacionales en animales domésticos. Estos puntos son importantes para plantear adecuados programas de mejoramiento genético, conservación y comprensión de la variabilidad genética de las poblaciones domésticas.

Los estudios genético poblacionales en animales domésticos, particularmente en bovinos, presentan generalmente dos estrategias de muestreo. En la primera, los animales seleccionados no están emparentados (Cervini *et al.* 2006; Ciampolini *et al.* 1995; Egito *et al.* 2007; Ibeagha-Awemu *et al.* 2004; Ibeagha-Awemu *et al.* 2005; Kumar *et al.* 2003; Liron *et al.* 2006; Loftus *et al.* 1999; MacHugh *et al.* 1994; Mateus *et al.* 2004; Maudet *et al.* 2002, Moazami-Goudarzi *et al.* 1997; Peelman *et al.* 1998, Zhang *et al.* 2000), en la cual se busca una representación de la población fundadora, es decir, la máxima variabilidad genética. En la segunda, la estrategia es realizar una selección de animales de manera aleatoria, utilizando una metodología de muestreo aleatorio simple, lo cual es un método probabilístico (Cañon *et al.* 2001; Zhou *et al.*

2005). Adicionalmente, existen estudios donde no se describen los criterios de selección (Steigleder *et al.* 2004; Brenneman *et al.* 2007).

La metodología de muestreo adecuada para estimar parámetros genéticos de una población es la probabilística. En los estudios genético poblacionales, este tipo de muestreo busca obtener una muestra representativa que refleje la estructura y composición genética de la población actual. Sin embargo, generalmente cuando se plantean estos estudios no se considera información previa disponible sobre la composición genealógica de la población que permita establecer un intervalo generacional determinado y la proporción de descendientes dentro de esta, lo cual puede optimizar los esquemas de muestreo y obtener una muestra con un mayor control de sesgo más cercana a la realidad de la población actual. Esta información puede generar un marco de referencia que permita establecer estratos dentro del universo muestral en las poblaciones bovinas lo cual permitiría aumentar la homogeneidad dentro de las unidades muestrales y así obtener estimaciones más precisas y confiables de los parámetros de la población a estudiar.

Adicionalmente, la metodología de muestreo aleatorio simple involucra un costo alto, además de asumir una completa homogeneidad de la población, incluso puede ser superior al del procesamiento mismo de las muestras en el laboratorio según el nivel de distribución geográfica que se quiera analizar. Por esto, existe la necesidad de explorar estrategias de muestreo que puedan realizar una mejor selección de los individuos y optimizar los recursos disponibles para realizar estudios genéticos poblacionales de las razas domésticas. Considerando que los laboratorios que realizan genotipificaciones de animales domésticos alrededor del mundo acumulan la información de miles de perfiles genéticos, el empleo de estas bases podrían actualizar y brindar información reciente sobre estas poblaciones de razas domésticas sin plantear esquemas de muestreo costosos, siempre y cuando, haya criterios de selección adecuados basados en la determinación de los intervalos generacionales y la proporción de descendientes por reproductor.

Por ello, este trabajo plantea dos puntos. El primero es considerar la información genealógica respecto a intervalos generacionales y la utilización de descendientes disponibles para la definición de estratos y realizar un muestreo estratificado que reduzca la variabilidad presente en un muestreo aleatorio simple cuando no se considera la información anterior. Segundo, una metodología para validar la información disponible en las bases de datos de genotipos para la selección de animales en poblaciones domésticas que tengan genealogías para ser utilizados en estudios genético poblacionales. Para evaluar el primer punto, se realizaron simulaciones con poblaciones aleatoriamente construidas bajo una estructura poblacional similar a la encontrada en razas cebú (*Bos taurus indicus*) en Colombia, la cual fue establecida a través de sus genealogías. Se evaluó el efecto de diferentes métodos de muestreo sobre la estimación de algunos parámetros genéticos poblacionales. Se evaluaron diferencias genéticas dentro y entre las metodologías de muestreo planteadas. Para el segundo punto, se comparó el total de una base de datos de 2000 perfiles genéticos de la raza Brahman en Colombia con la selección de individuos de esa misma base con criterios poblacionales y genealógicos mediante las mismas estimaciones realizadas anteriormente en la simulación.

Por lo anterior, este trabajo aportará directrices a tener en cuenta en el momento de realizar este tipo de estudios mediante la evaluación sistemática de la información de genealogías y de la evaluación de bases de datos con datos genotípicos para su validación y uso en estos estudios.

El segundo artículo titulado "DIFERENCIAS GENÉTICAS ENTRE RAZAS DE GANADO CEBUINO COLOMBIANO (*Bos taurus indicus*) MEDIANTE EL ANÁLISIS DE INFORMACIÓN GENEALÓGICA Y MOLECULAR (MICROSATÉLITES)". Atendiendo el llamado a la conservación, sostenibilidad y manejo de nuestros recursos genéticos animales como también lo ha planteado la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) mediante un Plan Global de Acción para los Recursos Genéticos Animales, planteamos en esta parte del trabajo como la evaluación sistematizada un recurso zoo-genético importante para nuestro país como lo es el ganado cebuino, ya que representa cerca del 90% de la base genética bovina colombiana (información suministrada por la Unión Nacional de Asociaciones Ganaderas Colombianas). Este llamado también es debido a una serie de reportes por la misma FAO, por ejemplo, en el reporte de este año llamado "The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture" (FAO 2007), se estima que al menos una raza doméstica por mes se ha extinguido sobre los últimos 7 años y que además, cerca del 20% de las razas domésticas de todo el mundo están en peligro de extinción. Esto crea una necesidad científica, económica y técnica para desarrollar estudios de esta naturaleza que permitan el conocimiento y mejor aprovechamiento de nuestros recursos zoogenéticos.

Existen dos grandes grupos de ganado doméstico vacuno (*Bos taurus*) en el mundo, las de tipo taurino y cebuino. Las razas cebuinas divergieron de las razas taurinas alrededor de 850000 años atrás y fueron domesticadas independientemente de las mismas hace 10,000 años aprox. en lo que hoy es la región del oriente medio, más precisamente en Pakistán (Loftus *et al*. 1994; MacHugh *et al*. 1997). En esta región se desarrollaron la mayoría de razas cebuinas incluyendo al Nelore u Ongole, Gyr y Guzerá. A diferencia de estas razas, el origen del Brahman es producto del cruzamiento de razas taurinas (presumiblemente Shorthorn) y cebuinas (Indubrasil, Gyr, Guzerá), sin embargo la mayoría de sus características fenotípicas (Rodríguez 1993) y genéticas (Meirelles *et al*. 1999; Novoa & Usaquén 2010) corresponden a éstas últimas. Adicionalmente, en la formación del Brahman se diferenciaron dos tipos el Brahman Gris o Blanco y el Brahman Rojo, cada cual con un origen que se basó en componentes diferenciales de las razas cebú anteriormente mencionadas (Sanders 1980). Estas razas llegaron a Colombia a principios del siglo XX, particularmente el Brahman, y la importación de las razas Gyr y Guzerá aumentó considerablemente desde los años 70 (Rodríguez 1993). Actualmente, las razas cebuinas son la base principal del comercio de esta especie en Colombia y en países tropicales como Venezuela, Brasil e India.

Una raza es un grupo homogéneo, subespecífico, de individuos que poseen características externas definidas e identificables que se heredan genéticamente (Dobzhansky 1941) que permiten distinguirlos a simple vista de otros grupos definidos de la misma manera en la misma especie (Turton 1974), que comparten una ancestría o historia evolutiva común (Carter & Cox

1982) y que generalmente están circunscritos a una región biogeográfica común. El origen de estas razas está enmarcado en un proceso de selección artificial, desde la domesticación misma de estas especies. En este proceso, el hombre es la fuerza que ha generado gran parte de las presiones selectivas y sumado a la selección natural se ha generado una diversidad alta de razas de ganado vacuno. Pese a que la condición de particularidad genética está explícita en el concepto de raza, sólo hasta las últimas décadas se ha evidenciado que la diferenciación fenotípica entre razas corresponde a una diferenciación genética entre las mismas (MacHugh *et al*. 1997; Cañon *et al*. 2001; Mateus *et al*. 2004).

Actualmente, gran parte de los reportes en genética de poblaciones sobre razas bovinas se ha centrado en razas taurinas (Blott *et al.* 1998; Cañon *et al.* 2001; Kantanen 2000; Li *et al.* 2007; MacHugh *et al.* 1994,1998; Troy *et al.* 2001) debido, en parte, al esfuerzo para conservar las razas criollas taurinas en países europeos, donde se encuentran distribuidas la mayoría de estas razas y en menor grado las razas cebuinas (Edwards *et al.* 2000; Freeman *et al.* 2004; Ibeagha-Awemu *et al.* 2004, 2005; Kumar *et al.* 2003; Loftus *et al.* 1994; MacHugh *et al.* 1997; Metta *et al.* 2004). Estudios en estas últimas se han centrado principalmente en la introgresión de razas cebuinas en poblaciones taurinas Africanas y Asiáticas, y también en generar hipótesis acerca de los centros de domesticación de estas razas. Además, estudios en razas cebuinas tropicales son escasos (Bicalho *et al.* 2006; Brenneman *et al.* 2007; Cervini *et al.* 2006; Egito *et al.* 2007; Meirelles *et al.* 1999, Novoa & Usaquén 2010). Esta es la información con la que se cuenta actualmente y permite hacer inferencias en las relaciones genéticas entre las razas evaluadas con otras razas cebuinas y taurinas en el mundo.

Teniendo en cuenta que en Colombia son escasos los estudios de variabilidad y estructura genética de estas razas comerciales, este trabajo busca caracterizar genéticamente estas razas mediante la comparación de datos moleculares con base en marcadores tipo microsatélites (para las razas Brahman y Gyr) y datos genealógicos (Brahman, Gyr, Guzerá y Nelore), basados en el comportamiento parámetros poblacionales, la inferencia de estructura genética y a su vez en las relaciones genéticas de las mismas con otras poblaciones del mundo.

EFECTOS DE ESTRATEGIAS DE MUESTREO SOBRE LA ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS GENÉTICO POBLACIONALES Y VALIDACIÓN DE BASES DE DATOS GENOTIPÍCAS PARA REALIZAR ESTUDIOS POBLACIONALES EN RAZAS BOVINAS

Novoa, M.A.
Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C.
manovoab@bt.unal.edu.co

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha discutido sobre los tipos de marcadores adecuados para realizar estudios genético poblacionales en diferentes especies (Sunnucks 2000) o animales domésticos (Blott *et al.* 1999; Weller *et al.* 2006). Sin embargo, no se ha explorado el efecto que tiene la estrategia de muestreo sobre estimaciones de parámetros poblacionales y sesgos en los resultados reportados. Adicionalmente, no se ha explorado una metodología para validar las bases de datos de genotipos existentes en diferentes laboratorios para que sean utilizados en estudios genético-poblacionales en animales domésticos. Estos puntos son importantes para plantear adecuados programas de mejoramiento genético, conservación y comprensión de la variabilidad genética de las poblaciones domésticas.

Los estudios genético poblacionales en animales domésticos, particularmente en bovinos, presentan generalmente dos estrategias de muestreo. En la primera, los animales seleccionados no están emparentados (Cervini *et al.* 2006; Ciampolini *et al.* 1995; Egito *et al.* 2007; Ibeagha-Awemu *et al.* 2004; Ibeagha-Awemu *et al.* 2005; Kumar *et al.* 2003; Liron *et al.* 2006; Loftus *et al.* 1999; MacHugh *et al.* 1994; Mateus *et al.* 2004; Maudet *et al.* 2002, Moazami-Goudarzi *et al.* 1997; Peelman *et al.* 1998, Zhang *et al.* 2000), en la cual se busca una representación de la población fundadora, es decir, la máxima variabilidad genética. En la segunda, la estrategia es realizar una selección de animales de manera aleatoria, utilizando una metodología de muestreo aleatorio simple, lo cual es un método probabilístico (Cañon *et al.* 2001; Zhou *et al.* 2005). Adicionalmente, existen estudios donde no se describen los criterios de selección (Steigleder *et al.* 2004; Brenneman *et al.* 2007).

La metodología de muestreo adecuada para estimar parámetros genéticos de una población es la probabilística. En los estudios genético poblacionales, este tipo de muestreo busca obtener una muestra representativa que refleje la estructura y composición genética de la población actual. Sin embargo, generalmente cuando se plantean estos estudios no se considera información previa disponible sobre la composición genealógica de la población que permita establecer un intervalo generacional determinado y la proporción de descendientes dentro de esta, lo cual puede optimizar los esquemas de muestreo y obtener una muestra con un mayor control de sesgo más cercana a la realidad de la población actual. Esta información puede generar un marco de referencia que permita establecer estratos dentro del universo muestral en las poblaciones bovinas lo cual permitiría aumentar la homogeneidad dentro de las unidades muestrales y así obtener estimaciones más precias y confiables de los parámetros de la población a estudiar.

Adicionalmente, la metodología de muestreo aleatorio simple involucra un costo alto, además de asumir una completa homogeneidad de la población, incluso puede ser superior al del procesamiento mismo de las muestras en el laboratorio según el nivel de distribución geográfica que se quiera analizar. Por esto, existe la necesidad de explorar estrategias de muestreo que puedan realizar una mejor selección de los individuos y optimizar los recursos disponibles para realizar estudios genéticos poblacionales de las razas domésticas. Considerando que los laboratorios que realizan genotipificaciones de animales domésticos alrededor del mundo acumulan la información de miles de perfiles genéticos, el empleo de estas bases podrían actualizar y brindar información reciente sobre estas poblaciones de razas domésticas sin plantear esquemas de muestreo costosos, siempre y cuando, haya criterios de selección adecuados basados en la determinación de los intervalos generacionales y la proporción de descendientes por reproductor.

Por ello, este trabajo plantea dos puntos. El primero es considerar la información genealógica respecto a intervalos generacionales y la utilización de descendientes disponibles para la definición de estratos y realizar un muestreo estratificado que reduzca la variabilidad presente en un muestreo aleatorio simple cuando no se considera la información anterior. Segundo, una metodología para validar la información disponible en las bases de datos de genotipos para la selección de animales en poblaciones domésticas que tengan genealogías para ser utilizados en estudios genético poblacionales.

Para evaluar el primer punto, se realizaron simulaciones con poblaciones aleatoriamente construidas bajo una estructura poblacional similar a la encontrada en razas cebú (*Bos taurus indicus*) en Colombia, la cual fue establecida a través de sus genealogías. Se evaluó el efecto de diferentes métodos de muestreo sobre la estimación de algunos parámetros genéticos poblacionales. Se evaluaron diferencias genéticas dentro y entre las metodologías de muestreo planteadas. Para el segundo punto, se comparó el total de una base de datos de 2000 perfiles genéticos de la raza Brahman en Colombia con la selección de individuos de esa misma base con criterios poblacionales y genealógicos mediante las mismas estimaciones realizadas anteriormente en la simulación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Criterios poblacionales

Se analizaron los pedigríes de la raza cebú Brahman (1´017.853 animales desde 1990 hasta el 2008), Gyr (17.571 animales desde 1954 hasta 2008), Guzerá (13.303 animales desde 1956 hasta 2008) y Nelore (8.063 animales desde 1956 hasta 2008), suministrados por la Asociación Colombiana de criadores de ganado Cebú (ASOCEBÚ). Se filtró la información de datos faltantes o no congruentes (por ejemplo, fechas de nacimiento vacías o padres más jóvenes o con la misma edad que algunos de los hijos) y se recodificaron los animales en donde se desarrollo un sistema de información para tal fin. El cálculo del intervalo generacional se basó en la metodología propuesta por Falconer & Mackay (1996) y se realizó en el programa POPREP (Groeneveld *et al.* 2009), donde este es el promedio de edad de los parentales al nacimiento de

sus hijos quienes también fueron seleccionados para ser padres. El promedio del intervalo generacional anual de los últimos 10 años definió el tiempo en años de la última generación. Se estableció el aporte de descendientes de los toros y de las vacas reproductoras en esta última generación estimada.

Construcción de poblaciones simuladas

Se construyó una población de 10.000 perfiles genéticos bovinos constituidos con 12 microsatélites con base en los siguientes criterios: La población está caracterizada por el aporte genético de 5 toros, cuyos genotipos se construyeron aleatoriamente, que aportan el 35% en descendientes, donde el toro A aporta el 15%, el toro B el 8%, el toro C el 5%, el toro D el 5% y el toro E el 2%. Todos los animales de dicha población provienen de distintas madres. Los genotipos de estos 5 toros, los de sus descendientes y los animales restantes fueron seleccionados aleatoriamente por procedimientos programados mediante una hoja de cálculo con base en una lista de alelos de cada microsatélite y con los genotipos de los toros mencionados.

Estrategias de muestreo

Se realizaron tres esquemas de muestreo tomando como referencia 100 muestras de 100 animales de las poblaciones simuladas. 1. Muestreo Aleatorio (AL) se seleccionaron aleatoriamente 100 animales de la lista de 10.000. 2. Muestreo No Emparentado (NE) se seleccionaron aleatoriamente 100 animales no relacionados (máximo un descendiente por toro). 3. La propuesta metodológica: Muestreo por Proporción de Descendientes por Toro (PT), para esto se establecieron estratos con base en el número de descendientes por toro en la última generación determinada, de esta forma se definieron los 5 primeros estratos con base en los 5 reproductores simulados que reunieron el 35% de descendientes y el sexto estrato lo conformaron los descendientes de los toros que reunieron desde el 36 hasta el 100%. Considerando que el tamaño de muestra fue 100, dentro de cada estrato se seleccionaron aleatoriamente los animales, proporcionalmente al número de descendientes dentro del estrato. Por ejemplo, para la primera muestra simulada, para el toro A se escogieron aleatoriamente 15 animales de sus descendientes por cada muestra, para el toro B se escogieron a 8 toros y así sucesivamente se conformaron 100 muestras de 100 animales. Esta metodología, se basa en considerar la estructura *per se* que se puede inferir en poblaciones domésticas (con registros genealógicos) donde hay un uso intensivo de algunos pocos reproductores que finalmente se convierten en la base genética de la generación siguiente. Esto aumentaría la homogeneidad dentro de los estratos y permitiría tener mayor confiabilidad en las estimaciones que se realicen. Además, aunque no fue evaluado, esta metodología considera la selección de animales dentro de una misma generación, lo cual reduce el sesgo de analizar animales de diferentes generaciones.

Construcción de muestras para validación de bases de datos para estudios genéticos poblacionales.

Se utilizó una base de datos de 2000 genotipos con 11 microsatélites sugeridos por la Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG-2006) para pruebas de parentesco en bovinos. Con base en los criterios poblacionales calculados previamente (Intervalos generacionales y número de

descendientes por toro (Tabla 1)) para la raza Brahman en Colombia, se escogieron 515 genotipos que cumplieron con dichos criterios. Se evaluaron 2 estrategias de selección de individuos. 1. Animales no emparentados nacidos en la última generación y 2. Animales que cumplieran con los criterios de aporte genético por toro en la última generación (Muestreo por Proporción de Descendientes por Toro: PT) y que fueran de diferentes madres. Para esto se realizaron 100 muestras aleatorias compuestas por 192 animales cada una por cada tipo de muestreo. No se realizó el muestreo aleatorio simple ya que las muestras analizadas ya se encontraban previamente en el laboratorio.

Análisis de las muestras

Se realizaron los siguientes cálculos tanto para las poblaciones simuladas por tipo de muestreo como para las muestras basadas en la base de datos utilizada: Número Medio de Alelos (NMA), diversidad genética no sesgada (Nei 1987) y el coeficiente de endogamia (F_{IS}) de Wright según Weir & Cockerham (1984) usando el programa GENEPOP v. 4.0 disponible en http://kimura.univ-montp2.fr/~rousset/Genepop.htm. Para determinar si existe un efecto del tipo de muestreo sobre estas medidas (Ho: existe igualdad en los efectos de los tres tipos de muestreo) se realizaron pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis o Mann-Whitney) en el programa SPSS v.15. Se realizaron este tipo de análisis porque las distribuciones de los resultados no se ajustaron a una distribución de datos conocida o porque no cumplieron con la condición de homocedasticidad.

Para evaluar la estructura genética dentro de las muestras de cada tipo de muestreo y en las muestras de la base de datos, se realizó una prueba de diferenciación alélica mediante una prueba exacta de Fisher según Raymond & Rousset (1995) usando el programa GENEPOP v 4.0. Los niveles de significancia se corrigieron según el método de Bonferroni (Rice 1989).

Para evaluar la diferenciación genética entre los tipos de muestreo, se seleccionaron 30 de las muestras construidas (poblaciones simuladas) y de las muestras de la base de datos, se realizó un AMOVA entre estas poblaciones y F_{ST} pareado según Excoffier *et al.* (1992) empleando el programa Arlequín v3.01. Se realizó un Análisis de Correspondencias Múltiples (ACM) de acuerdo a Belkhir *et al.* (2000) en el programa GENETIX v.4.05.2. Adicionalmente, se realizaron estimaciones del número de posibles poblaciones presentes en las muestras con base en modelos de inferencia bayesiana de acuerdo con Pritchard *et al.* (2000) utilizado por el programa STRUCTURE 2.2 (100.000 burning period; 500.000 MCMC).

RESULTADOS

Después de realizar las depuraciones a las bases de datos de los animales registrados para las razas Brahman y Gyr, se utilizó información consistente de 712.865 animales. Se estableció un intervalo generacional promedio de 5.75 y 7.2 años para la razas Brahman y Gyr respectivamente. El aporte en número de descendientes en la última generación por reproductor, calculado a partir de los intervalos generacionales, varió entre las razas analizadas. La distribución de los porcentajes de descendientes por reproductor(es) y el número total de animales en la última generación se presenta en la Tabla 1. Las hebras reproductoras no

tuvieron aportes superiores al 1% en la última generación definida para todas las razas y por esto no se tuvieron en cuenta las proporciones de descendientes por vaca.

Tabla 1. Porcentaje de descendientes en la última generación estimada y número de animales que nacieron en esa generación en las dos razas analizadas. T: Número total de animales en la última generación definida. En paréntesis se muestra el número de toros que tuvieron ese porcentaje de descendientes.

Brahman	**Gyr**
T: 261007	**T:**8770
1.5% (1)	11% (1)
1.4%(1)	10% (1)
1.2%(2)	9% (1)
1.0%(1)	4% (1)
0.8%(1)	6% (2)
0.7%(1)	2% (5)
0.6%(3)	1% (12)
0.5%(7)	
0.4%(10)	

Resultados de la Simulación

Con base en los criterios de selección se conformaron 100 poblaciones por cada tipo de muestreo. Se encontraron diferencias significativas entre las tres metodologías de muestreo respecto al Número Promedio de alelos (Valor de $P<0.01$, $\alpha=0.05$), Diversidad Genética (Valor de $P<0.01$, $\alpha=0.05$) y Coeficiente de Endogamia, F_{IS}, (Valor de $P<0.01$, $\alpha=0.05$) (Figura 1). Al realizar pruebas pareadas no se encontraron diferencias significativas entre el muestreo aleatorio (AL) y por proporción de descendientes por toro (PT) en los tres estadísticos calculados (Valor de $P>0.05$, $\alpha=0.05$). En cambio entre AL con NE y PT con NE se encontraron diferencias significativas (Valor de $P<0.01$, $\alpha=0.05$).

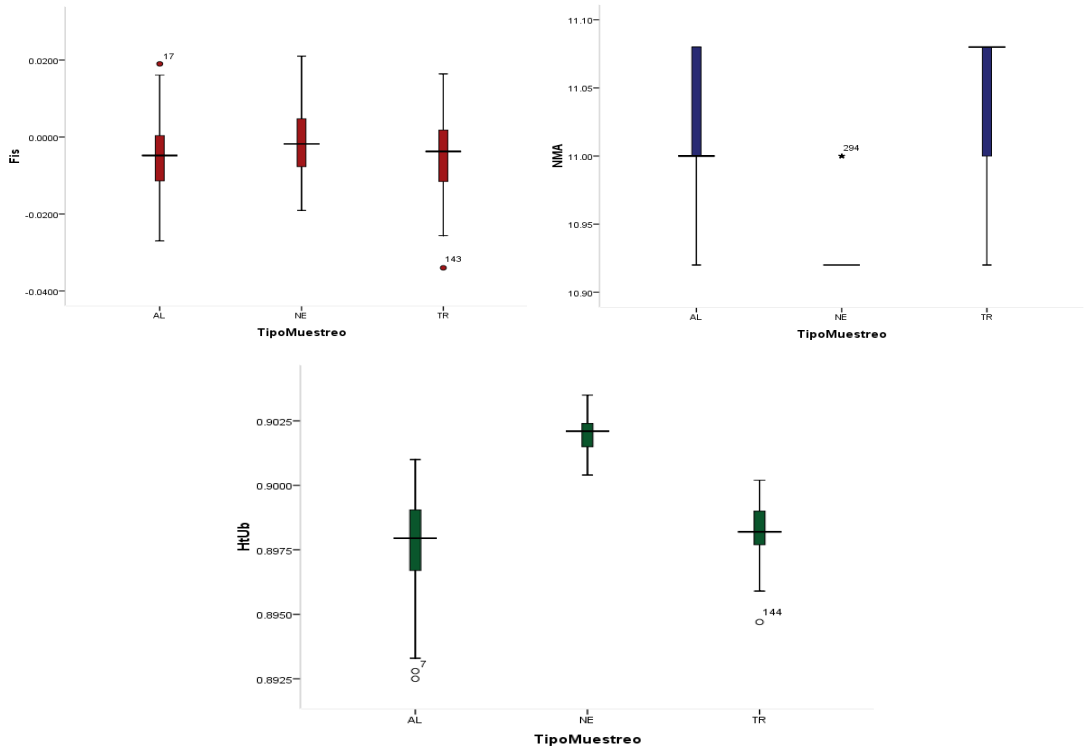


Figura 1. Box plots de los tres parámetros estimados bajo las tres codiciones de muestreo con los datos simulados. AL: Aleatorio, NE: No Emparentado, TR: PT, Proporción por descendientes por toro. FIS: Coeficiente de Endogamia, NMA: Número medio de alelos, HtUb: Diversidad Genética no sesgada (Nei 1987).

Se encontraron 33, 21 y 1 pares de poblaciones diferentes en la prueba de diferenciación alélica ($P<0.0041$, $\alpha=0.0041$ con la corrección de Bonferroni) dentro de los métodos AL, NE y PT respectivamente. La metodología que obtuvo menos poblaciones diferentes fue la PT y la que más, fue AL.

El AMOVA muestra una diferenciación muy baja (F_{ST}: 0.0007) pero significativa ($P \leq 0.000001$) entre las tres poblaciones. Al evaluar la significancia entre pares de poblaciones se encontró que para dentro del método de PT hubo sólo un par de poblaciones significativamente diferentes de las 435 comparaciones posibles (0.2%), dentro del método AL hubo 50 de las 435 comparaciones (11.5%) y dentro del método NE hubo 45 de 435 comparaciones (10.3%). Al comparar las poblaciones entre los 3 métodos se encontró que entre las poblaciones por PT y AL hubo 17 pares de poblaciones significativamente diferentes de las 435 comparaciones posibles (3.9%), entre PT y NE 325 pares de poblaciones diferentes de las 435 (74.7%) y entre AL y NE se encontraron 330 pares de poblaciones diferentes de las 435 (75.9%). Adicionalmente, estos análisis muestran un aumento en la homogeneidad dentro de las muestras definidas por PT que las definidas por AL.

El ACM entre los tres tipos de muestreo separa a las poblaciones formadas con base en el muestreo de animales no emparentados de las otras poblaciones (Figura 2).

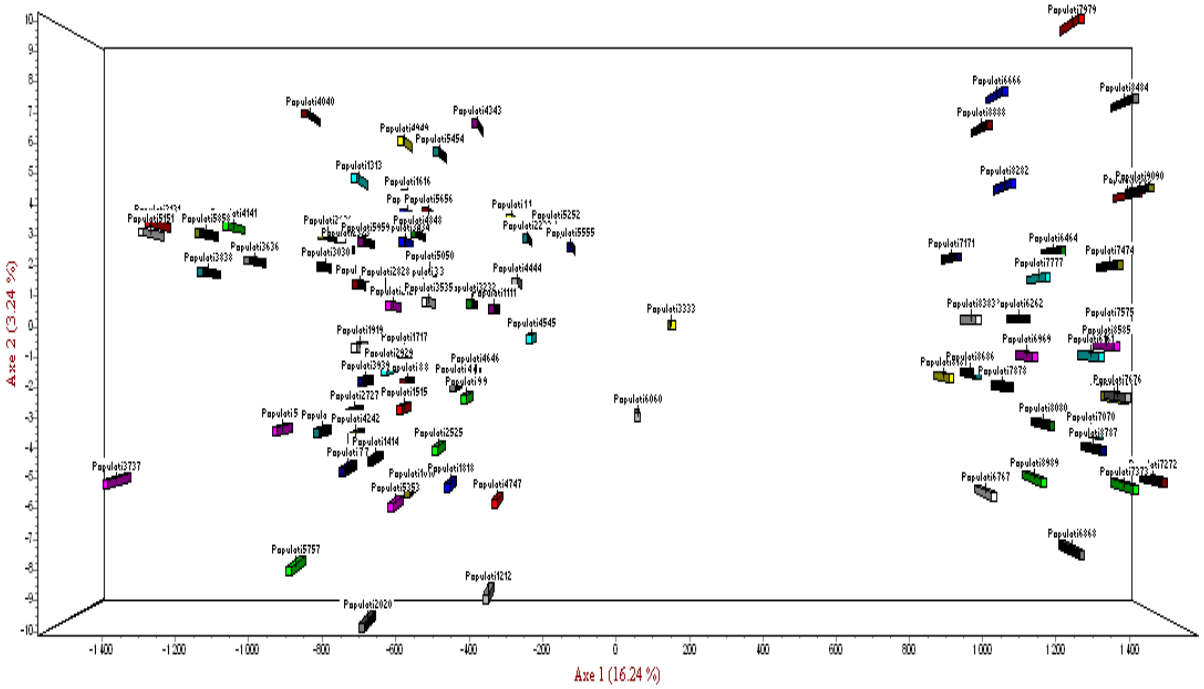


Figura 2. Análisis de correspondencias múltiples entre 90 muestras o poblaciones simuladas a partir de tres diferentes metodologías de muestreo. El número de cada población corresponde a los dos primeros números de la etiqueta. Poblaciones de la 1 a la 30 muestreo aleatorio estratificado por descendientes de toros, de la 31 a la 60 muestreo aleatorio, de la 61 a la 90 muestreo de animales no emparentados. Las poblaciones 61 a 90 se separan de las otras poblaciones en el eje 1.

El análisis bayesiano estableció que las muestras por proporción de descendientes por toro (PT) muestran el mismo número de poblaciones encontradas en la muestra (K=5, K, número de poblaciones más probables) que corresponden con el número de reproductores que tienen más del 2% de descendientes en ese intervalo generacional. Por otro lado, las muestras basadas en muestreo por animales no emparentados (NE) y en el aleatorio (Al) muestran que no se presenta estructura genética en las muestras analizadas.

Base de datos genotípica

Se encontraron diferencias significativas entre las dos metodologías de muestreo respecto a la Diversidad Genética (Valor de $P<0.05$, $\alpha=0.05$) y Coeficiente de Endogamia, F_{IS}, (Valor de $P<0.05$, $\alpha=0.05$) pero no para el Número Medio de Alelos (Valor de $P=0.97$, $\alpha=0.05$) (Figura 3). Hubo correspondencia entre estos resultados y la simulación realizada anteriormente, excepto para el NMA.

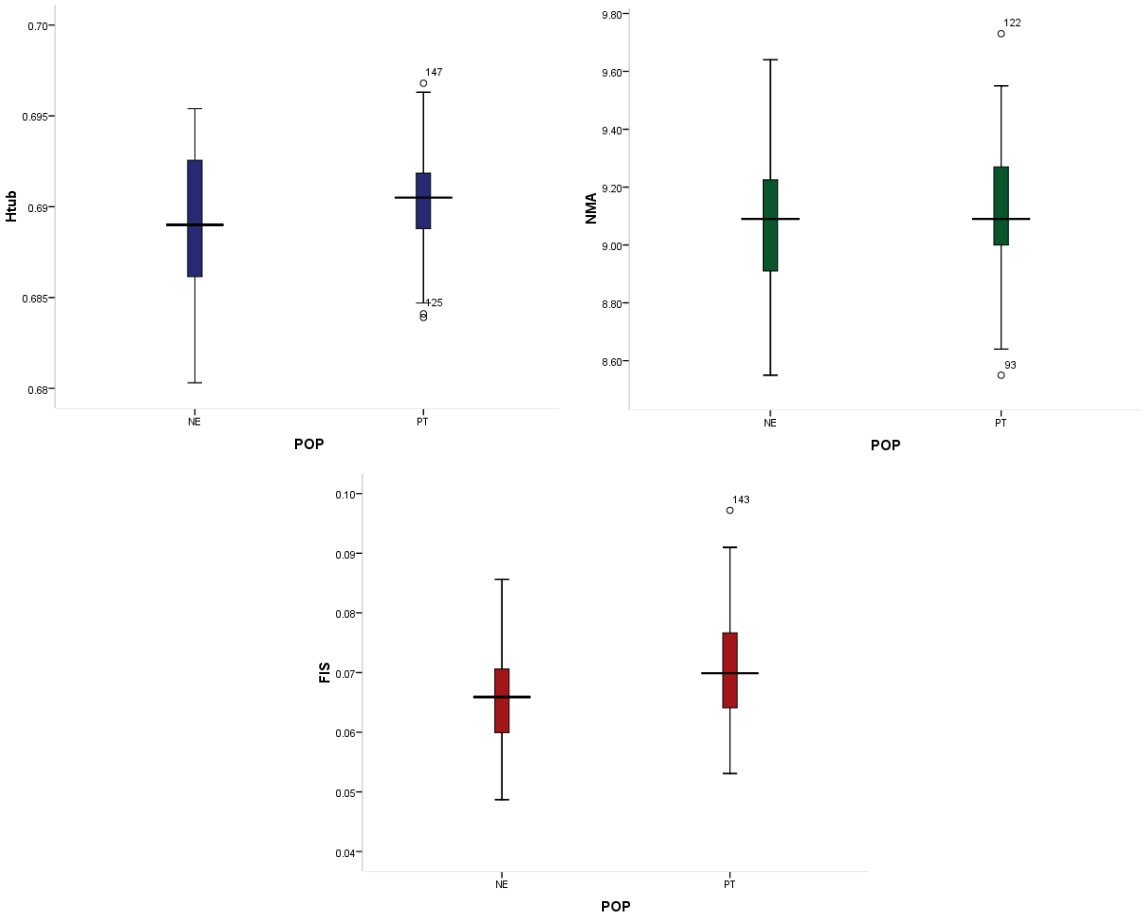


Figura 3. Box plots de los tres parámetros estimados de una base de datos genotípica de la raza Brahman en Colombia bajo 2 codiciones de muestreo. NE: No Emparentado, PT: Proporción por descendientes por toro. FIS: Coeficiente de Endogamia, NMA: Número Medio de Alelos, HtUb: Diversidad Genética no sesgada (Nei 1987).

No se encontraron poblaciones diferentes en la prueba de diferenciación alélica (P>0.05, α=0.05) dentro de los métodos NE y PT. El AMOVA no muestra diferenciación significativa (P>0.05, α=0.05) entre los dos tipos de muestreo. Al evaluar la significancia entre pares de poblaciones mediante el F_{ST}, tampoco se encontraron poblaciones diferentes para ningún método.

El ACM entre los tres tipos de muestreo separa parcialmente a las poblaciones formadas con base en el muestreo de animales no emparentados de las de proporción de descendientes por toro (Figura 4).

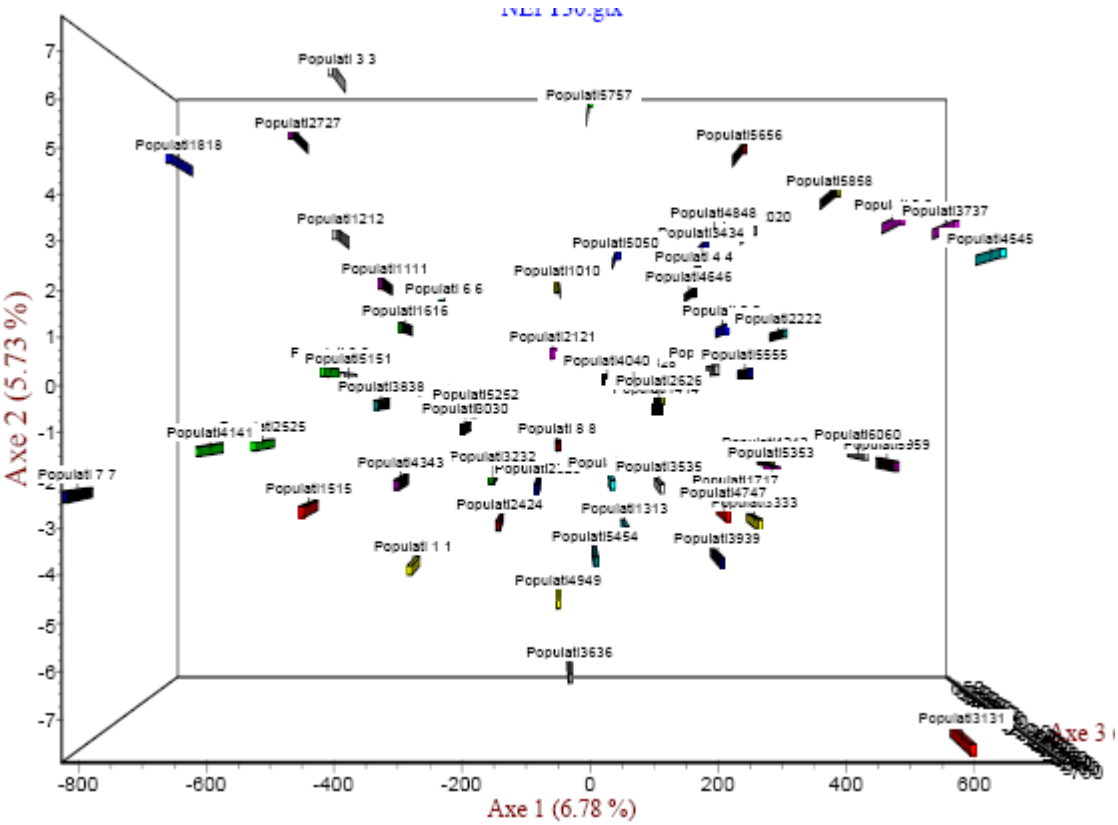
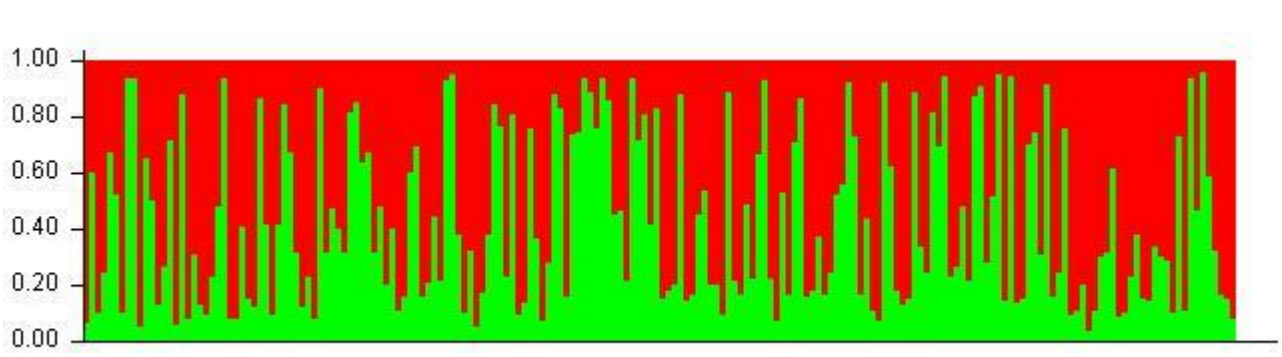


Figura 4. Análisis de correspondencias múltiples entre 60 muestras provenientes de 2 metodologías de muestreo. El número de cada población corresponde a los dos primeros números de la etiqueta. Poblaciones de la 1 a la 30 muestreo de animales no emparentados y de la 31 a la 60 muestreo por proporción de descendientes de toros. Las poblaciones 61 a 90 se separan de las otras poblaciones en el eje 1.

Los análisis bayesianos muestran que las dos metodologías evaluadas generan resultados diferentes. Las muestras obtenidas con la metodología de animales no emparentados muestran repetibilidad, k=2 (Fig. 5), mientras que la metodología de proporción de descendientes por toro muestra un k=4 (Fig. 5).



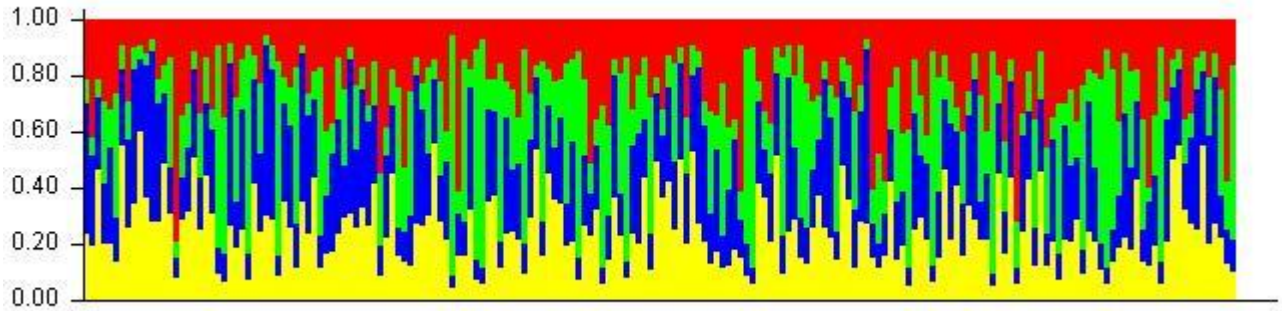


Figura 5. Gráficos de barras de los resultados del análisis bayesiano en el programa STRUCTURE de datos genotípicos bajo dos esquemas de muestreo. Imagen superior, k=2, muestra obtenida con la metodología de muestreo de animales no emparentados. Imagen inferior, k=4, muestra obtenida con la metodología de proporción de descendientes por toro.

DISCUSIÓN

Los resultados muestran robustez en las simulaciones realizadas en donde hay correspondencia mayoritaria entre lo obtenido con la población construida y los datos reales. Además, los resultados en general muestran que cuando se realizan muestreos de animales no emparentados hay una sobre estimación de la diversidad genética en términos de heterocigocidad esperada (Fi. 1), una sub estimación del nivel de apareamiento aleatorio (coeficiente de endogamia F_{IS}) (Fig. 3) y particularmente sobre la estructura genética según los análisis bayesianos y de ACM (Fig. 2, 4 y 5). Esto muestra la importancia de utilizar la información genealógica (cuando está disponible) en los estudios genético poblacionales, al establecer estratos (en términos de composición genética) y al definir una generación con base en los intervalos generacionales calculados, ya que esto aumenta la homogeneidad esperada en cada unidad muestral (estratos) y permite estimar con mayor exactitud parámetros genéticos de la población.

Por otro lado, no hubo una diferenciación alélica o genotípica de las muestras obtenidas de los datos reales con las metodologías de muestreo comparadas a diferencia de los datos simulados. Esto puede explicarse por la diferencia en cuanto al tamaño de las poblaciones simuladas (10.000 animales) con la población real de cebú Brahman (aprox. 388.000 animales, fuente: Unión Nacional de Asociaciones Ganaderas de Colombia UNAGA 2010) y además, a la similaridad genética entre los animales reproductores en la población real a diferencia de la población simulada donde compartían menos del 10% de alelos. En poblaciones reales con un número menor de animales o con reproductores más distantes genéticamente es posible que los efectos de las metodologías de muestreo sean más acentuados. Además, fuera de las simulaciones computacionales, los efectos de flujo génico y su relación con aspectos de la geografía regional, aunado con las nuevas prácticas de reproducción artificial como la inseminación artificial, fertilización *in vitro*, transferencia de embriones y del uso intensivo de unos pocos reproductores puedan generar aún más diferencias que serían registradas en procedimientos de muestreo tales como el muestreo PT.

En cuanto a los resultados obtenidos de los k probables según el análisis bayesiano, el origen y la conformación de esas sub-poblaciones deberán ser discutidos en un posterior análisis.

Con base en los análisis con los datos reales y en la estrategia de muestreo PT, se plantea la siguiente metodología para validar datos genotípicos en estudios genético poblacionales:
1. Las bases de datos deben contener un número de genotipos necesarios que mantengan las mismas proporciones de animales descendientes de los toros reproductores (y de diferentes madres) en el último periodo generacional. Estos criterios poblacionales deberán ser calculados a partir de la información existente de las genealogías de todos los animales de una raza en particular.
2. El número de animales para la muestra será el número máximo de animales que conserven las proporciones de descendientes de los toros reproductores.
3. Los análisis de diferenciación genética, F_{ST} pareado y pruebas de diferenciación alélica y genotípica entre las muestras no deben ser significativas o al menos en el 95% de las pruebas pareadas.
4. Los resultados de pruebas de análisis bayesiano de subestructura genética, tomando aleatoriamente algunas (>3) de las muestras obtenidas, deben ser repetibles entre sí.

Si alguno de los puntos 3 y/o 4 no se cumplen se recomienda incrementar el número de genotipos en la base de datos y realizar nuevamente los análisis planteados.

Esta metodología permite evaluar bases de genotipos bajo las directrices aquí planteadas. Pese a que los animales presentes en dichas bases no cumplen con la condición de aleatoriedad, con la metodología propuesta es posible tener un marco de referencia que se acerque a la realidad de la población y permitan utilizar toda esta información que se va acumulando a través de los años con una confiabilidad aceptable. Esto reduciría los costos que involucran actualizar los parámetros estimados de los estudios genético poblacionales iniciales, principalmente por la velocidad con que este tipo de poblaciones pueden evolucionar en el tiempo.

Referencias

Blott S.C., Williams J.L. & Haley C.S. (1999) Discriminating among cattle breeds using genetic markers. *Heredity* **82 (Pt 6)**, 613-619.

Brenneman R.A., Chase C.C., Olson T.A., Riley D.G. & Coleman S.W. (2007) Genetic diversity among Angus, American Brahman, Senepol and Romosinuano cattle breeds. *Animal Genetics* **38**, 50-53.

Canon J., Alexandrino P., Bessa I., Carleos C., Carretero Y., Dunner S., Ferran N., Garcia D., Jordana J., Laloe D., Pereira A., Sanchez A. & Moazami-Goudarzi K. (2001) Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. *Genetics, selection, evolution.* **33**, 311-332.

Cervini M., Henrique-Silva F., Morati N. & Matheucci-Jr E. (2006) Genetic variability of 10 microsatellite markers in the characterization of Brazilian Nellore cattle (*Bos indicus*). *Genetics and Molecular Biology* **29**, 486-490.

Ciampolini R., Moazami-Goudarzi K., Vaiman D., Dillmann C., Mazzanti E., Foulley J.L., Leveziel H. & Cianci D. (1995) Individual multilocus genotypes using microsatellite polymorphisms to permit the analysis of the genetic variability within and between Italian beef cattle breeds. *Journal of Animal Science* **73**, 3259-3268.

Egito A.A., Paiva S.R., Albuquerque M.S., Mariante A.S., Almeida L.D., Castro S.R. & Grattapaglia D. (2007) Microsatellite based genetic diversity and relationships among ten Creole and commercial cattle breeds raised in Brazil. *BMC Genetics* **8**, 83

El Mousadik, A. ,Petit, R.J. (1996) Chloroplast DNA phylogeography of the argan tree of Morocco. *Mol. Ecol.*, **5,** 547-555.

Groeneveld E., Westhuizen B.v.d., Maiwashe A., Voordewind F. & Ferraz J.B.S. (2009) POPREP: a generic report for population management. *Genetics and Molecular Research*. **8** (3): 1158-1178

Ibeagha-Awemu E.M., Jann O.C., Weimann C. & Erhardt G. (2004) Genetic diversity, introgression and relationships among West/Central African cattle breeds. *Genetics, selection, evolution.* **36**, 673-690.

Ibeagha-Awemu E.M. & Erhardt G. (2005) Genetic structure and differentiation of 12 African *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds, inferred from protein and microsatellite polymorphisms. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **122**, 12-20.

Kumar P., Freeman A.R., Loftus R.T., Gaillard C., Fuller D.Q. & Bradley D.G. (2003) Admixture analysis of South Asian cattle. *Heredity* **91**, 43-50.

Liron J.P., Peral-Garcia P. & Giovambattista G. (2006) Genetic Characterization of Argentine and Bolivian Creole Cattle Breeds Assessed through Microsatellites. *The Journal of heredity* **97**, 331-339.

Loftus R.T., Ertugrul O., Harba A.H., El Barody M.A., MacHugh D.E., Park S.D. & Bradley D.G. (1999) A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Molecular Ecology* **8**, 2015-2022.

MacHugh D.E., Loftus R.T., Bradley D.G., Sharp P.M. & Cunningham P. (1994) Microsatellite DNA variation within and among European cattle breeds. *Proceedings.Biological sciences / The Royal Society* **256**, 25-31.

Mateus J.C., Penedo M.C., Alves V.C., Ramos M. & Rangel-Figueiredo T. (2004) Genetic diversity and differentiation in Portuguese cattle breeds using microsatellites. *Animal Genetics* **35**, 106-113.

Maudet C., Luikart G. & Taberlet P. (2002) Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. *Journal of Animal Science* **80**, 942-950.

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

Nei, M. (1987) Genetic variation within species. In: Nei, M. (ed.), *Molecular Evolutionary Genetics*, Columbia University Press, New York, pp 176–181.

Raymond, M., Rousset, F. (1995) An exact test for population differentiation. *Evolution*, **49,** 1280-1283.

Rice W. (1989) Analyzing Tables of Statistical Tests. *Evolution*, **43**, 1, 223-225.

Peelman L.J., Mortiaux F., Van Zeveren A., Dansercoer A., Mommens G., Coopman F., Bouquet Y., Burny A., Renaville R. & Portetelle D. (1998) Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds. *Animal Genetics* **29** , 161-167.

Steigleder C.S., Almeida E.A. & Weimer T.A. (2004) Genetic diversity of a brazilian creole cattle based on fourteen microsatellite loci. *Archivos de Zootecnia* **53**, 3-11.

Sunnucks P. (2000) Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology & Evolution* **15**, 199-203.

Weir, B.S., Cockerham, C.C. (1984) Estimating F statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38,** 1358-1370.

Weller J.I., Seroussi E. & Ron M. (2006) Estimation of the number of genetic markers required for individual animal identification accounting for genotyping errors. *Animal Genetics* **37**, 387-389.

Zhang G.X., Wang Z.G., Chen W.S., Wu C.X., Han X., Chang H., Zan L.S., Li R.L., Wang J.H., Song W.T., Xu G.F., Yang H.J. & Luo Y.F. (2000) Genetic diversity and population structure of indigenous yellow cattle breeds of China using 30 microsatellite markers. *Animal Genetics* **38**, 550-559.

Zhou G.L., Jin H.G., Zhu Q., Guo S.L. & Wu Y.H. (2005) Genetic diversity analysis of five cattle breeds native to China using microsatellites. *J.Genet.* **84**, 77-80.

DIFERENCIAS GENÉTICAS ENTRE RAZAS DE GANADO CEBUINO COLOMBIANO (Bos taurus indicus) MEDIANTE EL ANÁLISIS DE INFORMACIÓN GENEALÓGICA Y MOLECULAR (MICROSATÉLITES)

Novoa, M.A.
Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C.
manovoab@bt.unal.edu.co

INTRODUCCIÓN

Las razas de ganado tipo cebú (*Bos taurus* L., 1758) son la base principal del comercio de esta especie en Colombia y países tropicales. Particularmente las razas Brahman, seguidas por Gyr y Guzerá son las más ampliamente difundidas en nuestro país.
En el proceso de genotipificación de estas razas comerciales, indispensable en el comercio internacional, el conocimiento de la variabilidad genética y las relaciones genéticas con otras razas permiten vislumbrar el potencial genético de las razas evaluadas. Además, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) hace un llamado para la conservación, sostenibilidad y manejo de los recursos genéticos animales mediante un Plan Global de Acción para los Recursos Genéticos Animales, a través de la evaluación sistematizada de estos recursos. Este llamado es debido a una serie de reportes por la misma FAO, por ejemplo, en el reporte de este año llamado "The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture" (FAO 2007), se estima que al menos una raza doméstica por mes se ha extinguido sobre los últimos 7 años y que además, cerca del 20% de las razas domésticas de todo el mundo están en peligro de extinción. Esto crea una necesidad científica, económica y técnica para desarrollar estudios de esta naturaleza que permitan el conocimiento y mejor aprovechamiento de nuestros recursos zoogenéticos.

Existen dos grandes grupos de ganado doméstico vacuno (*B. taurus*) en el mundo, las de tipo taurino y cebuino. Las razas cebuinas divergieron de las razas taurinas alrededor de 850000 años atrás y fueron domesticadas independientemente de las mismas hace 10,000 años aprox. en lo que hoy es la región del oriente medio, más precisamente en Pakistán (Loftus *et al*. 1994; MacHugh *et al*. 1997). En esta región se desarrollaron la mayoría de razas cebuinas incluyendo al Nelore u Ongole, Gyr y Guzerá. A diferencia de estas razas, el origen del Brahman es producto del cruzamiento de razas taurinas (presumiblemente Shorthorn) y cebuinas (Indubrasil, Gyr, Guzerá), sin embargo la mayoría de sus características fenotípicas (Rodríguez 1993) y genéticas (Meirelles *et al*. 1999; Novoa & Usaquén 2010) corresponden a éstas últimas. Adicionalmente, en la formación del Brahman se diferenciaron dos tipos el Brahman Gris o Blanco y el Brahman Rojo, cada cual con un origen que se basó en componentes diferenciales de las razas cebú anteriormente mencionadas (Sanders 1980). Estas razas llegaron a Colombia a principios del siglo XX, particularmente el Brahman, y la importación de las razas Gyr y Guzerá aumentó considerablemente desde los años 70 (Rodríguez 1993). Actualmente, las razas cebuinas son la base principal del comercio de esta especie en Colombia y en países tropicales como Venezuela, Brasil e India.

Una raza es un grupo homogéneo, subespecífico, de individuos que poseen características externas definidas e identificables que se heredan genéticamente (Dobzhansky 1941) que permiten distinguirlos a simple vista de otros grupos definidos de la misma manera en la misma especie (Turton 1974), que comparten una ancestría o historia evolutiva común (Carter & Cox 1982) y que generalmente están circunscritos a una región biogeográfica común. El origen de estas razas está enmarcado en un proceso de selección artificial, desde la domesticación misma de estas especies. En este proceso, el hombre es la fuerza que ha generado gran parte de las presiones selectivas y sumado a la selección natural se ha generado una diversidad alta de razas de ganado vacuno. Pese a que la condición de particularidad genética está explícita en el concepto de raza, sólo hasta las últimas décadas se ha evidenciado que la diferenciación fenotípica entre razas corresponde a una diferenciación genética entre las mismas (MacHugh *et al*. 1997; Cañon *et al*. 2001; Moazami-Goudarzi *et al*. 2003).

Actualmente, gran parte de los reportes en genética de poblaciones sobre razas bovinas se ha centrado en razas taurinas (Blott *et al.* 1998; Cañon *et al.* 2001; Kantanen 2000; Li *et al.* 2007; MacHugh *et al.* 1994,1998; Troy *et al.* 2001) debido, en parte, al esfuerzo para conservar las razas criollas taurinas en países europeos, donde se encuentran distribuidas la mayoría de estas razas y en menor grado las razas cebuinas (Edwards *et al.* 2000; Freeman *et al.* 2004; Ibeagha-Awemu *et al.* 2004, 2005; Kumar *et al.* 2003; Loftus *et al.* 1994; MacHugh *et al.* 1997; Metta *et al.* 2004). Estudios en estas últimas se han centrado principalmente en la introgresión de razas cebuinas en poblaciones taurinas Africanas y Asiáticas, y también en generar hipótesis acerca de los centros de domesticación de estas razas. Además, estudios en razas cebuinas tropicales son escasos (Bicalho *et al.* 2006; Brenneman *et al.* 2007; Cervini *et al.* 2006; Egito *et al.* 2007; Meirelles *et al.* 1999) y para Colombia está el reporte de la raza Brahman (Novoa & Usaquén 2010). Esta es la información con la que se cuenta actualmente y permite hacer inferencias en las relaciones genéticas entre las razas evaluadas con otras razas cebuinas y taurinas en el mundo.

Teniendo en cuenta que en Colombia son escasos los estudios de variabilidad, estructura genética de las razas cebú (excepto para el Brahman) y trabajos que combinen la información molecular y genealógica, este trabajo busca analizar genéticamente estas razas mediante la comparación de microsatélites y datos genealógicos, basados en el comportamiento de parámetros poblacionales, la inferencia de estructura genética y a su vez en las relaciones genéticas de las mismas con otras poblaciones del mundo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este proyecto está enmarcado en el convenio entre el Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia – Sede Bogotá y la Asociación Colombiana de Criadores de ganado Cebú Brahman (ASOCEBÚ), en el programa de identificación animal de la Unidad de Especies Domésticas del Grupo de Identificación del Instituto de Genética.

ANÁLISIS GENEALÓGICO DE LAS RAZAS CEBÚ EN COLOMBIA

Se analizaron los pedigríes de la raza cebú Brahman (1´017.853 animales desde 1990 hasta el 2007), Gyr (17.571 animales desde 1954 hasta el 2007), Guzerá (13.303 animales desde 1956 hasta el 2007) y Nelore (8.063 animales desde 1956 hasta el 2007), suministrados por la Asociación Colombiana de criadores de ganado Cebú (ASOCEBÚ). Se filtró la información de datos faltantes o no congruentes (por ejemplo, fechas de nacimiento vacías o padres más jóvenes o con la misma edad que algunos de los hijos) y se recodificaron los animales (se utilizó la información de número de registro, número de identificación en la finca y nombre) a un código único, en donde se desarrollo un sistema de información para tal fin.

Con base en esta información se establecieron medidas descriptivas y se estimaron parámetros poblacionales por año:

A nivel de la estructura de la población.
Número de machos y hembras reproductoras, distribución del número de parto por hembra, intervalo generacional (IG) como el promedio de edad de los parentales al nacimiento de sus hijos quienes también fueron seleccionados para ser padres (Falconer & Mackay 1996). Machos y hembras con mayor descendencia y machos y hembras con el mayor número de animales seleccionados.

Análisis de genealogías
Nivel completado del pedigrí, distribución de animales y su coeficiente individual de endogamia, número de animales endogámicos, estadísticas de los coeficientes de endogamia (F) de todos los animales y los animales endogámicos. Se calculó el tamaño efectivo poblacional (Ne) mediante dos metodologías (Falconer & Mackay 1996) la primera como el incremento del coeficiente de endogamia por generación como $\Delta F_{t=}$ ———, —— donde F_t es la endogamia promedio en la i-ésima generación o por el número de parentales, ——— donde N_m y N_f es el número de machos y hembras reproductoras respectivamente. Todos los análisis anteriores se realizaron con el programa POPREP (Groeneveld *et al.* 2009).

ANÁLISIS GENÉTICO POBLACIONAL

Muestreo
Se escogieron 180 genotipos (53 machos y 127 hembras) de la raza Brahman en Colombia distribuidos en varios departamentos (Tabla 1 sup.), con base en criterios genealógicos y generacionales (última generación) los cuales fueron validados para estudios genético poblacionales según Novoa (2010). Estos genotipos se encontraban en la base de datos del Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia (IGUN). Para la raza Gyr se realizó un muestreo aleatorio estratificado basado en la proporción de descendientes de los reproductores en la última generación (Novoa 2010) para un total de 100 individuos (5 machos y 95 hembras).

Toma y procesamiento de las muestras

Se tomaron muestras de pelo de la borla de los animales seleccionados y el ADN se extrajo de los folículos pilosos con la metodología sugerida por Troy *et al*. (2001).
Se utilizó un panel de 12 microsatélites dinucleótidos fluoromarcados (BM1818, BM1824, BM2113, ETH10, ETH3, ETH225, INRA23, TGLA227, TGLA126, TGLA122, TGLA53 y SPS115), ubicados en diferentes cromosomas, sugeridos por la Internationational Society of Animal Genetics (ISAG) y la Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) para estudios de diversidad genética en ganado doméstico. Adicionalmente, estos microsatélites son los recomendados para pruebas de parentesco en bovinos (ISAG 2009). Se realizó la co-amplificación de los microsatélites por PCR múltiplex, se visualizó el producto amplificado por electroforesis capilar con un ABI prism 310 y se analizaron estos resultados con los programas GeneScan y Genotyper (AppliedBiosystems®).

Análisis de la estructura genética
Se evaluó la estructura genética a nivel inter e intra-racial mediante: 1) Análisis multivariados mediante el análisis de correspondencias múltiples con el programa GENETIX v.4.02. 2). Estimaciones del número de posibles poblaciones presentes en la muestra con base en modelos de inferencia bayesiana de acuerdo con Pritchard *et al*. (2000) utilizado por el programa STRUCTURE 2.3.3. 3) El F_{ST} de Wright, según Weir & Cockerham (1984) y su significancia en el programa Arlequin v3.5. 4) Se realizó la prueba exacta de Fisher para diferenciación génica y genotípica entre razas según Raymond & Rousset (1995) en el programa GENEPOP v.4.0. 5) Se realizó un análisis molecular de la varianza (AMOVA) entre razas y poblaciones encontradas según Excoffier & Lischer (2010) empleando el programa Arlequín v3.5. Adicionalmente, para evaluar la estructura genética se tuvo en cuenta la presencia de loci con comportamientos particulares denominados loci atípicos también nombrados “outliers” (Luikart *et al.* 2003; Manel *et al.* 2003) que pueden sesgar este tipo de análisis, para esto se realizó un análisis de equilibrio Hardy-Weinberg según según Raymond & Rousset (1995) en el programa GENEPOP v.4.0. Finalmente, con base en estos resultados de estructura genética se realizaron los mismos análisis (1, 3, 4 y 5 citados anteriormente) entre los grupos encontrados, también se construyeron dendrogramas a nivel poblacional con los métodos UPGMA y Neighbor Joining empleando diferentes distancias genéticas (Cavalli-Sforza & Edwards 1967), DAS y Nei (1987). Estas distancias genéticas han mostrado ser útiles para datos tipo microsatélite en estudios anteriores (Takezaki & Nei 1996). Se estimaron las distancias y la robustez de las mismas (1000 Bootstrap) en el programa POPULATIONS, y se graficaron en el programa TreeView v. 1.6.6. (Page 1996).

Por otro lado, se analizó la independencia entre los grupos encontrados con el origen geográfico (departamentos y regiones biogeográficas), abuelos y bisabuelos maternos y paternos y con el linaje al cual pertenecen cada uno de los animales evaluados, mediante análisis de tablas de contingencia con la prueba X^2. Considerando la posibilidad de la presencia de marcadores “outliers” que pudieran sesgar los resultados de estructura genética dentro de cada raza, se retiraron los microsatélites que mostraron consistentemente desequilibrio HW en todos los grupos analizados como posibles “outliers” y se realizó el análisis bayesiano para comparar los resultados obtenidos anteriormente.

Finalmente, se evaluó el comportamiento de las frecuencias alélicas entre dos generaciones del Brahman en Colombia mediante pruebas exactas de Fisher de diferenciación genética y genotípica con el programa GENEPOP v.4.0. (Raymond & Rousset 1995) entre los datos actuales de la raza Brahman con los datos genotípicos de la generación anterior (periodo anterior al establecido para la población actual, definido por el intervalo generacional calculado) de la misma raza en Colombia. Para la generación anterior del Brahman se escogieron 235 genotipos de los animales que cumplieron criterios genealógicos y poblacionales según la metodología de Novoa (2010).

Estimadores genético poblacionales

Con base en los resultados de estructura genética, se calcularon las frecuencias alélicas por cada raza o población encontrada mediante conteo directo. Para la raza Brahman se calcularon a su vez intervalos de confianza al realizar 100 muestras de 180 genotipos de la base de datos del IGUN con base en la proporción de descendientes por reproductor en la última generación estimada (Novoa 2010). Se evaluó la diversidad genética en cada población por: alelos totales, alelos efectivos en cada locus y número medio de alelos observados en todos los loci (NMA). Se calcularon las heterocigocidades observadas y esperadas, las pruebas exactas de Fisher para evaluar el equilibrio Hardy-Weinberg (EHW) y desequilibrio gamético, por cada locus, en el programa GENEPOP v.4.0. (Raymond & Rousset 1995). Se estimó el nivel de apareamiento aleatorio con base en el F_{IS} dentro de las razas (Weir & Cockerham 1984).

Se calculó el índice de contenido polimórfico (ICP) de acuerdo con Marshall *et al*. (1998) y las probabilidades de exclusión *a priori* (PE y PE2) para cada marcador y acumuladas Jamieson (1994); Jamieson & Taylor (1997) en el programa CERVUS 2.0.

Relaciones genéticas entre razas

Para analizar las relaciones genéticas de estas dos razas y de las posibles poblaciones encontradas en las mismas con otras razas taurinas y cebuinas, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) en el programa MVSP (Multivariate Statistical Package) 3.1 (http://www.kovcomp.com), según Cavalli-Sforza *et al*. (1994) con las frecuencias alélicas de nueve loci BM1824, BM2113, ETH10, ETH225, ETH3, INRA23, TGLA122, TGLA227 y TGLA53 de 22 poblaciones de estas y otras poblaciones taurinas y cebuinas reportadas en el mundo (Tabla 2Sup.) que reúnen 2089 animales. Adicionalmente, con las poblaciones encontradas en el análisis de estructura genética anterior se hizo este mismo ACP y un análisis de distancias utilizando la distancia de cuerda derivada de Cavalli-Sforza & Edwards (1967) con base en las frecuencias utilizadas (Tabla 2Sup.) en el programa MVSP 3.1.

RESULTADOS

Número de machos y hembras reproductoras por año

Los resultados se muestran en las tablas suplementarias 3, 4, 5 y 6 en el Anexo. Cada raza muestra un comportamiento particular en estos resultados. Las razas Brahman, Gyr y Guzerá muestran una tendencia a aumentar el número de animales que nacen en los últimos años, sin embargo, la única raza que tiene un valor positivo en el último año comparado (2007) con

respecto al anterior es la raza Gyr, en las demás razas este valor es negativo. El número de animales reproductores, así como seleccionados para ser reproductores también por cada año (considerando el tiempo fisiológico de reproducción de estos animales) en la raza Gyr tiende a aumentar en ambos géneros, en la raza Brahman el número de hembras reproductoras y seleccionadas aumenta pero en los machos el comportamiento es más estable comparando los últimos años con los resultados de hace 10 años. En la raza Guzerá, el número de hembras reproductoras ha aumentado y el de machos se ha estabilizado a partir del año 2003. La raza Nelore es la que muestra una disminución evidente en estos resultados, a partir del año 1988 ha decrecido la población reproductora así como de animales nacidos.

Intervalo generacional por año

En la raza Brahman (Fig. 1A) y Gyr (Fig. 1B) la edad promedio entre machos y su descendencia es mayor que entre las hembras y su descendencia desde 1994. En la raza Nelore (Fig. 1C), la edad promedio entre machos y su descendencia es mayor que entre las hembras y su descendencia en todos los años analizados, excepto en el año de 1978. Esto indica que el uso de machos más longevos que hembras ha sido una práctica generalizada. Desde el año 1986 el uso de machos reproductores de mayor edad ha tenido una tendencia a aumentar, por el contrario, el intervalo generacional entre las hembras y su descendencia ha disminuido considerablemente en los últimos 3 años (1991-1993).

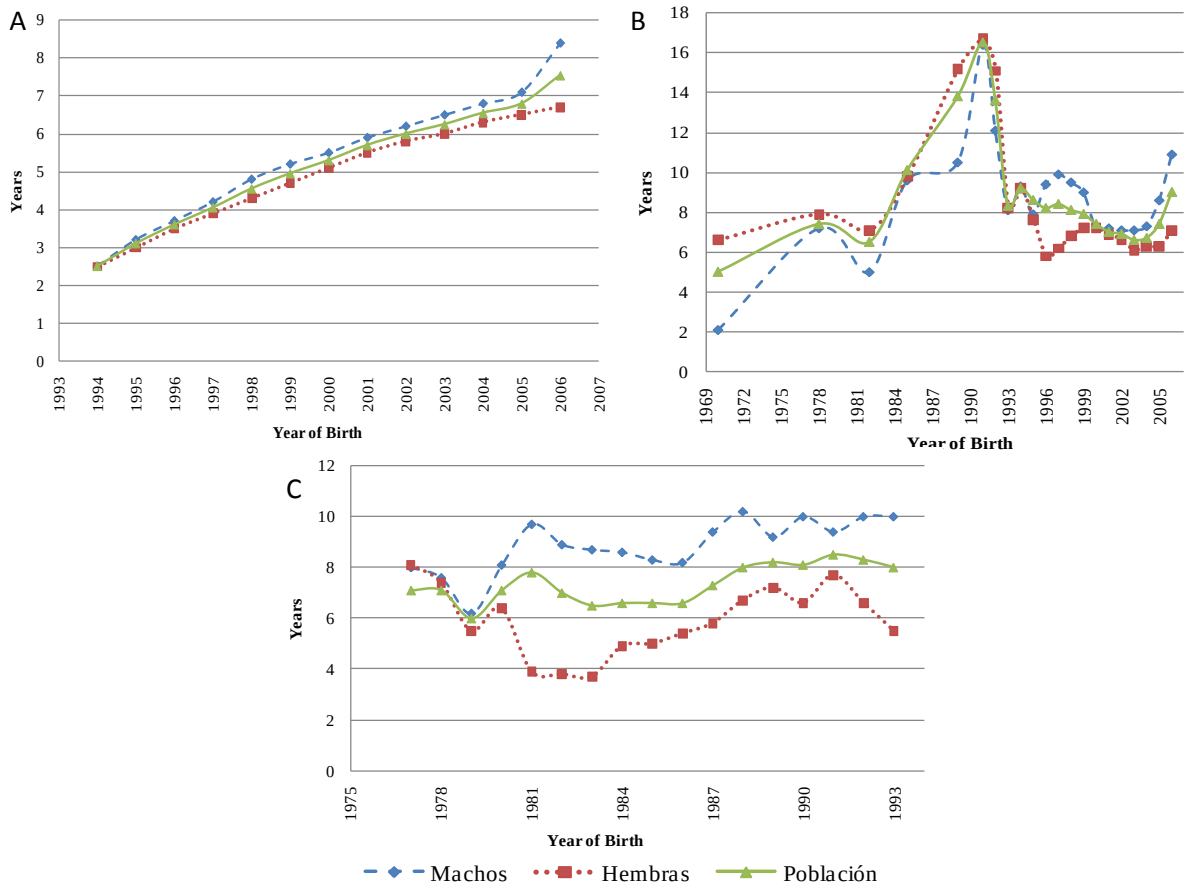


Figura 1. Intervalo generacional por año en la raza Brahman (A), Gyr (B) y Nelore (C).

En la raza Guzerá la falta de información en las fechas de nacimientos no permitió realizar año a año estos cálculos. El cálculo que se pudo establecer fue para toda la población, la cual fue de 8 años.

Nivel completado promedio de los pedigríes por año

El porcentaje de ancestros conocidos permite evaluar la confianza sobre las estimaciones en cuanto a coeficiente de endogamia y comparar el nivel de información disponible con el de otras razas de interés.

Las razas Brahman, Gyr y Guzerá (Fig. 2 A, B y C) muestran un alto nivel de ancestros conocidos en los últimos años analizados alcanzando 35%, 38.3 % y 43.3% de animales son ancestros conocidos hasta la 6ta generación, respectivamente. En cuanto a la raza Nelore, hasta el año de 1996 los valores son similares a las otras dos razas (Fig. 7), sin embargo a partir de esa fecha hasta el 2008 se presenta una variación alta en dichas medidas por el número reducido de animales registrados en ese periodo.

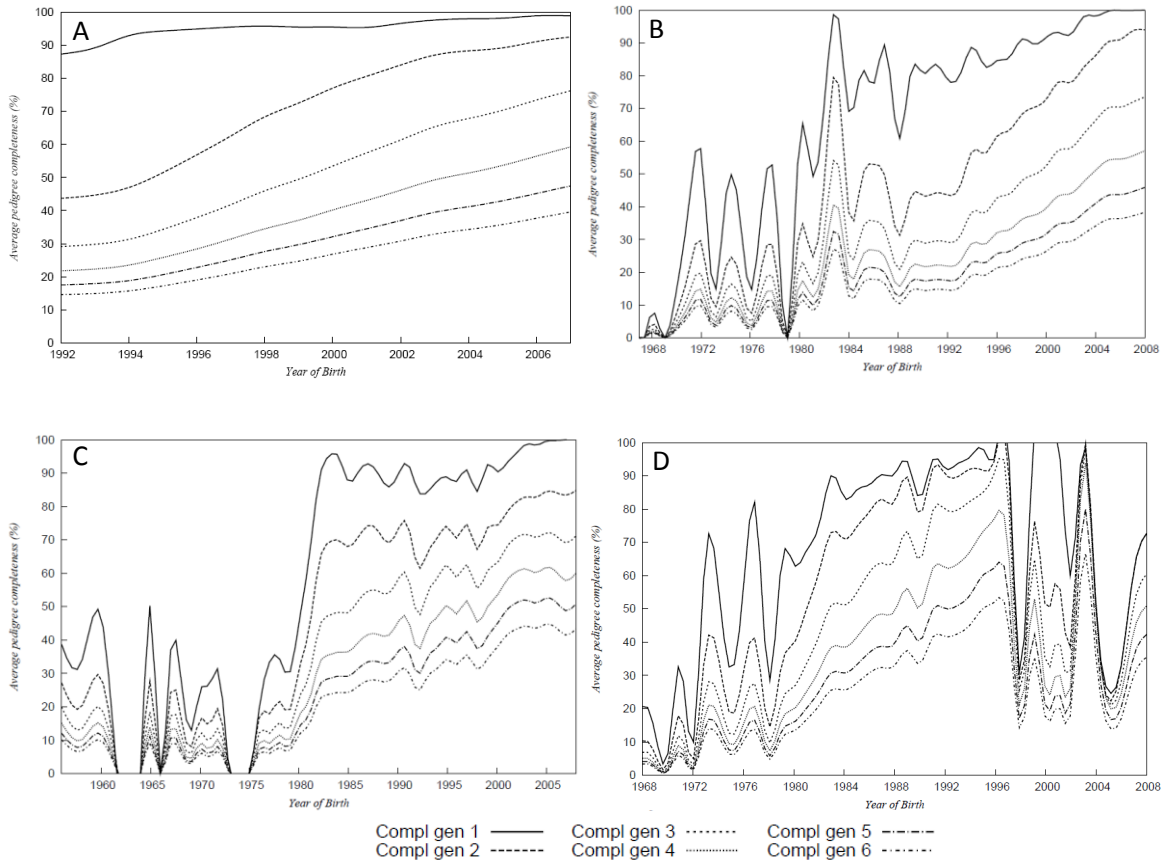


Figura 2. Promedio de los porcentajes de ancestros conocidos en generaciones para la raza Brahman (A), Gyr (B), Guzerá (C) y Nelore (D) en Colombia.

Coeficiente de endogamia y número de animales endogámicos por año

La raza que más presenta un mayor coeficiente de endogamia promedio en toda la población es el Gyr con un 1.4%, comparada con el 1.05% en Brahman, 0.4% en Guzerá y el 0.3% en la raza Nelore. Sin embargo este valor ha disminuido para el Gyr en los últimos 17 años (Fig. 3B), en Guzerá (Fig. 3C) ha sido estable cercano a 0 y en Nelore disminuyó a partir de 1996 y se ha mantenido estable (Fig. 3D). En cuanto el número de animales endogámicos (F>0), para el Brahman, Gyr y Guzerá aumentó en los últimos 15 años. La raza Nelore muestra una variabilidad alta en el número de animales endogámicos, causado particularmente por el escaso número de animales registrados en los últimos años.

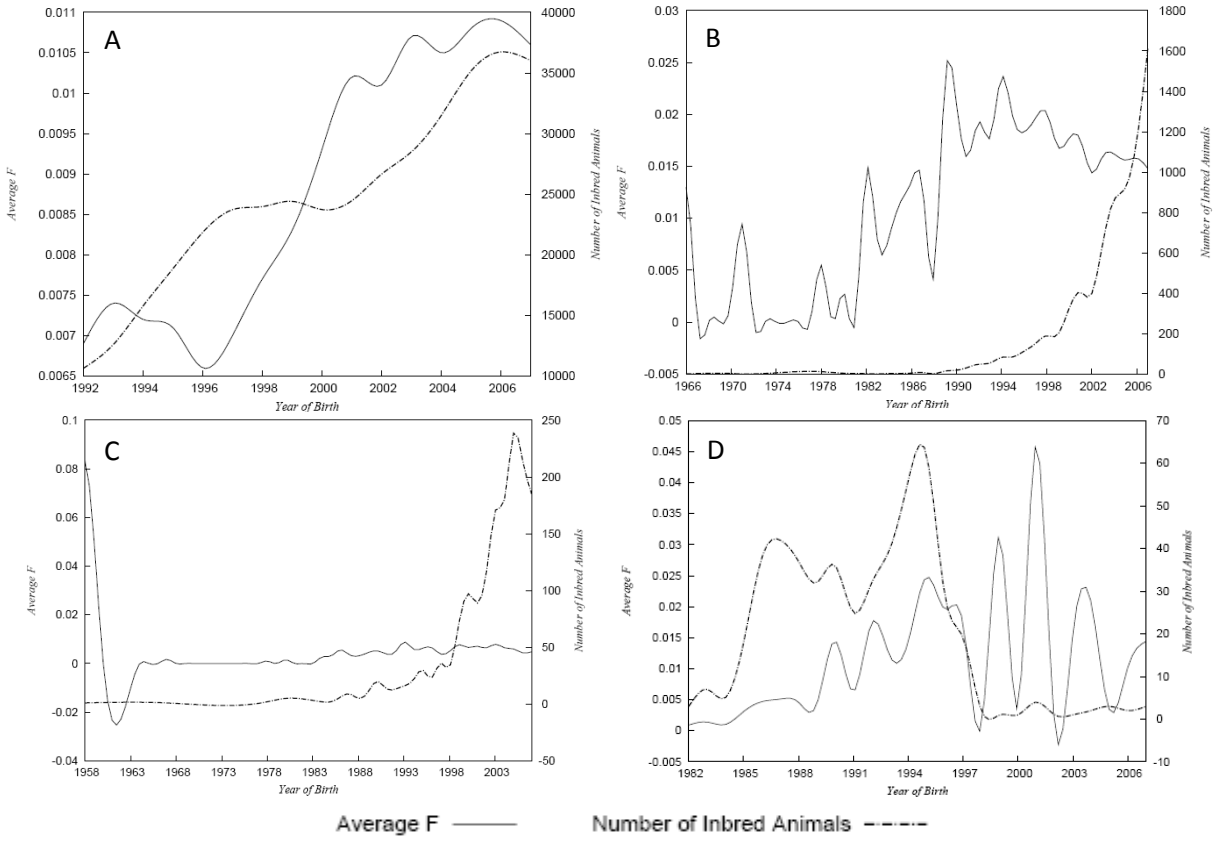


Figura 3. Comparación entre el coeficiente de endogamia y número de animales endogámicos por año para la raza Brahman (A), Gyr (B), Guzerá (C) y Nelore (D) en Colombia.

Tamaño efectivo poblacional (Ne) por el número de parentales por año.

El tamaño efectivo poblacional es una medida de diversidad genética y control de reproductores de la población en cuanto resume el número de animales parentales que efectivamente se están reproduciendo en la población a través de los años. Los datos de Brahman permitieron realizar el cálculo del Ne mediante las dos metodologías planteadas (Fig. 4), para las demás razas se calculó el Ne a partir de los animales reproductores por año (Fig. 5). Se observa un comportamiento concordante entre las dos metodologías para la raza Brahman. La media armónica del Ne (mediante el ΔF) para el periodo analizado (1992-2007) es 212. El Ne está

aumentando paulatinamente desde el año 2000, luego de una disminución sustancial desde la mitad de la década de los noventa.

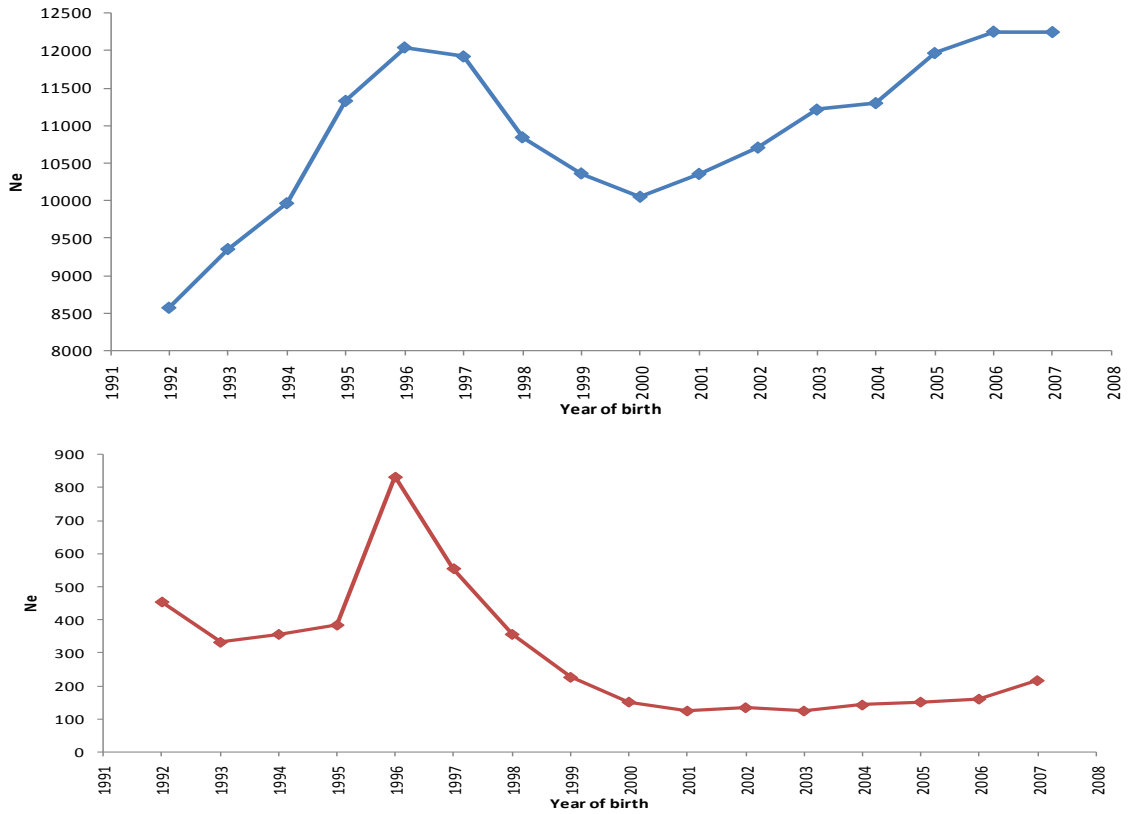


Figura 4. Tamaño efectivo poblacional (Ne) por año de la raza Brahman en Colombia. Superior, estimación del Ne mediante el número de reproductores. Inferior, estimación del Ne mediante el cambio del coeficiente de endogamia (ΔF).

Tanto Gyr como Guzerá muestran un aumento progresivo en el NE a partir de comienzos de la década de los ochenta (Fig. 5). Por otro lado, la raza Nelore es la única que muestra una disminución del Ne en los últimos años.

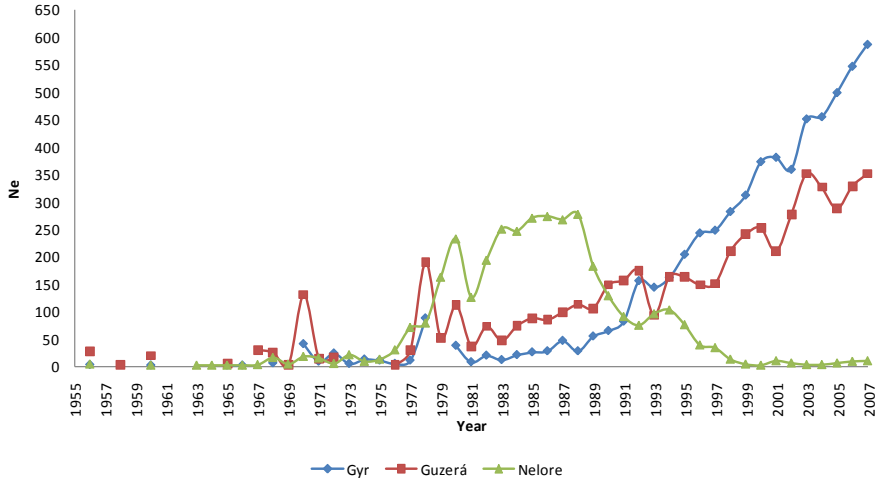


Figura 5. Tamaño efectivo poblacional por año de la raza Gyr, Guzerá y Nelore en Colombia mediante el número de reproductores.

ANÁLISIS GENÉTICO POBLACIONAL

Estructura genética

Los diferentes análisis de estructura genética evidencian diferencias genéticas significativas entre la raza Brahman y Gyr en Colombia. El Análisis de Correspondencias Múltiples (ACM, Fig. 6) reúne en su primer eje el 100% de la variación encontrada y separan animales Gyr de animales Brahman. El F_{ST} estimado 0.068 es significativo ($P<<0.001$, $\alpha=0.05$) entre las razas. El AMOVA evidencia que el 6.68% de la variación se explica entre las poblaciones, 3.6% entre individuos dentro de poblaciones y el 89.72% de la variación restante se explica por la variación dentro de los individuos

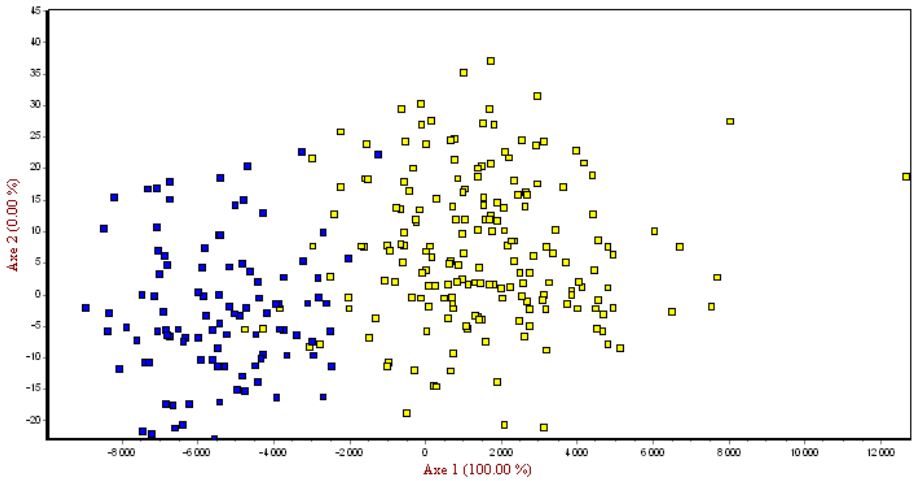
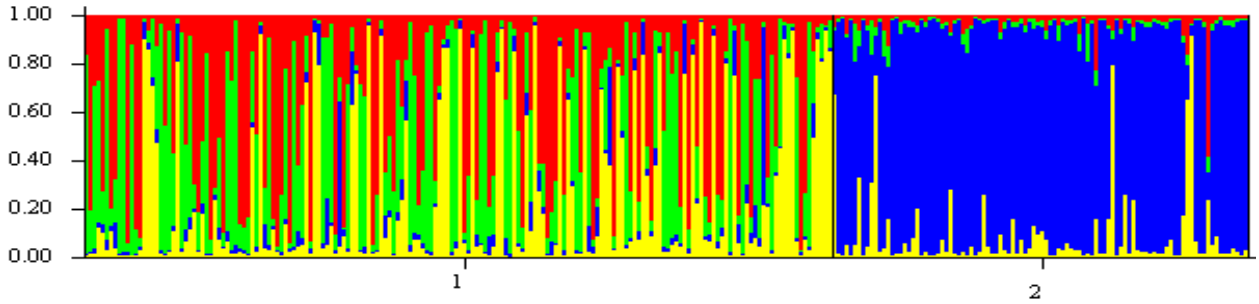


Figura 6. Análisis de Correspondencias Múltiples entre los genotipos de los animales de las razas Gyr (puntos azules) y Brahman (puntos amarillos).

Los análisis bayesianos también muestran una diferenciación genética entre las razas evaluadas y adicionalmente muestra una estructuración genética en la raza Brahman (Fig. 7). Este análisis muestra que se podrían presentar alrededor de 3 poblaciones dentro de la raza Brahman en Colombia.



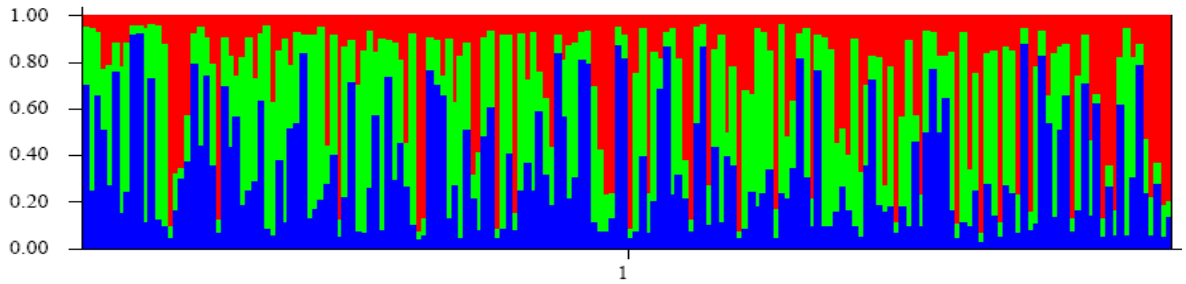


Figura 7. Gráfico de barras de los resultados del análisis bayesiano (K=4) en el programa STRUCTURE de datos genotípicos de las razas Brahman (1) y Gyr (2) en Colombia. B. Para la raza Brahman en Colombia (K=3).

El análisis de tablas de contingencias mostró independencia (P>>0.05, α:0.05) entre las agrupaciones obtenidas por el programa STRUCTURE en la raza Brahman con departamentos, regiones geográficas, abuelos paternos y maternos, bisabuelos paternos y maternos, pero no hubo independencia entre las agrupaciones con los linajes definidos en cada animal (P<<0.01, α:0.05), demostrando que la estructura genética encontrada se basa en la ancestría de los animales.

Al evaluar la estructura genética de estos tres grupos, los análisis muestran diferenciación genética y genotípica (P<<0.01, α: 0.05) con un F_{ST} (0.06) significativo (P<<0.01, α: 0.05). El AMOVA muestra que el 6% de la varianza encontrada se explica entre los grupos, el 4.33% entre los animales dentro del grupo y el 89.66% restante se presenta dentro de los animales. El F_{ST} pareado también muestra valores significativos (P<<0.01, α: 0.05) entre los pares de grupos. El análisis de distancias genéticas (Fig. 8) y de ACM (Fig. 9) refuerzan las diferencias genéticas presentes entre los 3 grupos encontrados. Hubo correspondencias entre las distancias genéticas evaluadas. Con base en estos resultados de estructura genética, dentro de la raza Brahman en Colombia, se presentan dos grandes linajes 1: el linaje HK MR. AMERICA 61/9 y VL y 2) el linaje de los descendientes de MANSO. Estos linajes corresponden con el color de capa de los animales siendo el primero Brahman Rojo y sus tonalidades (de aquí en adelante Brahman Rojo) y el segundo Brahman Blanco junto al Gris (de aquí en adelante referido como Brahman Blanco). Adicionalmente, este último linaje se podría separar en dos grupos con los marcadores analizados, para confirmar dicha separación y lo que lo origina, se requieren análisis posteriores.

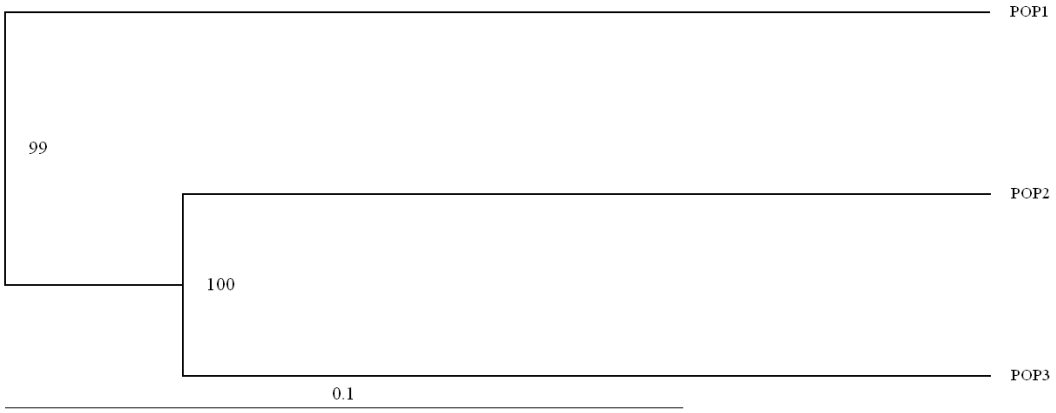


Figura 8. Distancia genética de Cavalli-Sforza (1967) entre los tres grupos obtenidos en el análisis de estructura genética de la raza Brahman provista por el programa STRUCTURE. Los valores de *bootstrap* soportan estas agrupaciones.

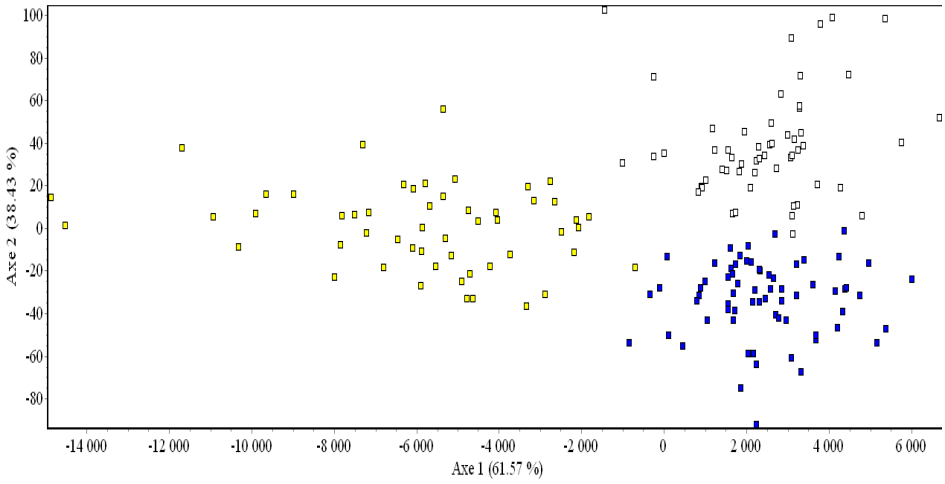


Figura 9. Análisis de correspondencias múltiples de los grupos definidos por el programa STRUCTURE en los animales de la raza Brahman en Colombia. Puntos amarillos, línea HK MR. AMERICA 61/9 y VL o Brahman Rojo, Puntos azules y blancos línea MANSO o Brahman Blanco.

Al realizar análisis de equilibrio HW en cada grupo, se encontraron diferencias significativas entre grupos y el total (Tabla 1). El grupo 1 presenta 6 microsatélites y la prueba multiloci en desequilibrio HW ($P<<0.001$, α: 0.05). Los otros dos grupos presentan 2 microsatélites en desequilibrio HW (ETH225 y TGLA53, $P<<0.01$, α: 0.05) y la prueba multiloci no es significativa ($P>0.05$, α:0.05). Estos dos microsatélites se presentan en todos los grupos encontrados en la población total en un desequilibrio altamente significativo ($P<<0.01$, α: 0.05).

Tabla 1. Valores de probabilidad para la prueba exacta de equilibrio HW por cada locus y en cada grupo evaluado. Pop1, Pop2 y Pop3, grupos definidos en el análisis de estructura genética para la población Brahman en Colombia. Total, análisis definido como una sola población de la raza Brahman.

Locus	Pop1	Pop2	Pop3	Total
BM1824	**0.014**	0.864	0.697	0.182
BM2113	0.888	0.695	0.879	0.076
ETH10	**0.033**	0.445	0.136	0.514
ETH225	**0.014**	**0.013**	**0.016**	**<<0.001**
ETH3	0.547	0.376	0.156	0.097
INRA23	0.826	0.922	0.490	0.611
SPS115	**0.015**	0.062	0.626	**0.024**
TGLA122	0.254	0.764	0.477	0.559
TGLA126	**0.017**	0.899	0.288	**0.036**
TGLA227	0.218	0.641	0.451	0.322
TGLA53	**<<0.001**	**0.002**	**0.032**	**<<0.001**
Total	**<<0.001**	>0.05	>0.05	**<<0.001**

Al retirar estos dos marcadores (ETH225 y TGLA53) que podrían ser *outliers*, el análisis bayesiano evidencia dos poblaciones (K=2) dentro de la raza Brahman, una menos que en el análisis con todos los marcadores, sin embargo se conserva la asociación con los linajes citados. Con base en este resultado se escogieron los animales que presentaron un porcentaje de ancestría mayor a 55% para catalogarlos dentro de uno de los grupos y se realizó un AMOVA, el cual confirma las diferencias entre estas poblaciones el cual evidencia que cerca del 7% de la variación y se explica entre las poblaciones, 1.15% entre individuos dentro de poblaciones y el 91.9% de la variación restante se explica por la variación dentro de los individuos. Lo cual muestra una mayor homogeneidad genética dentro de los grupos (1.15%) que la encontrada cuando se analizaron anteriormente 3 posibles grupos en la raza Brahman (4.33%). El F_{ST} (0.069) es significativo (P<<0.001, α: 0.05) y el F_{ST} pareado muestra que hay menor distancia entre el Gyr con el Brahman Rojo (F_{ST}: 0.0517, P<<0.001, α: 0.05) que entre las dos poblaciones de Brahman (F_{ST}: 0.0524, P<<0.001, α: 0.05) y la mayor distancia se presentó entre el Gyr con el Brahman blanco (F_{ST}: 0.0851, P<<0.001, α: 0.05). En los análisis posteriores se utilizaran las poblaciones del Brahman Rojo y el Brahman Blanco como poblaciones discriminadas. Es posible encontrar algunos pocos animales cuyo fenotipo sea de un color y pertenezcan al otro linaje, por causa de cruzamientos entre dichos linajes.

El análisis entre las dos generaciones de la raza Brahman evaluadas muestran que no hay diferenciación alélica o genotípica (P>0.05 α: 0.05), el F_{ST} no es significativo (P>0.05 α: 0.05) y en la generación anterior el F_{IS} tampoco es significativo (P>0.05 α: 0.05). El único marcador que evidencio dichas diferencias fue el marcador ETH10 (P<0.05 α: 0.05).

Estimadores genético poblacionales

En las tablas 2, 3 y 4 se reportan las frecuencias alélicas para las razas Gyr, Brahman, la población de Brahman Rojo y Brahman Blanco, respectivamente. Se observa una mayor cantidad de alelos en las poblaciones del Brahman que en el Gyr (Tabla 5), en donde el número medio de alelos (NMA) para la raza Gyr es de 7.3, para el Brahman es 9, para el Brahman Blanco

es 7.7 y para el Brahman Rojo es 8. El número de Alelos efectivos es similar en todos los marcadores entre poblaciones excepto para el microsatélite TGLA122, donde es mayor para Brahman (Tabla 5). Se presentan diferencias contrastables en cuanto a heterocigocidades, F_{IS} y equilibrio HW entre las poblaciones analizadas (Tabla 5). La raza Brahman total presenta un F_{IS} de 0.082, el Brahman Blanco un F_{IS} de 0.0517, el Brahman Rojo un F_{IS} de 0.1014 y el Gyr un F_{IS} de -0.021. Las 3 poblaciones del Brahman presentan un desequilibrio HW generalizado ($P<<0.001$, α:0.05) por déficit de heterocigotos ($P<<0.001$, α:0.05) a diferencia de la raza Gyr, la cual se encuentra en equilibrio HW ($P>0.05$, α:0.05) en todos los marcadores. El Brahman total presenta desequilibrio en 6 (BM2113, ETH225, ETH3, SPS115, TGLA126 y TGLA53) de los 11 marcadores evaluados, el Brahman Blanco 2 y el Brahman Rojo 6. Los valores forenses de ICP y PE se reportan en la tabla 5. Las probabilidades acumuladas de exclusión cuando sólo existe información de uno de los padres (PE) para el Brahman es 98.90%, para el Brahman Blanco es 98.18%, para el Brahman Rojo es 98.74% y para el Gyr: 98.26%. Cuando existe información de ambos padres (PE2) para el Brahman es 99.96% %, para el Brahman Blanco es 99.91 %, para el Brahman Rojo es 99.95% y para el Gyr 99.94%.

Tabla 2. Frecuencias alélicas de 11 microsatélites de la raza Brahman en Colombia. Al, Alelo; Freq, frecuencia: IC, Intervalo de confianza al 95%.

BM1824			**BM2113**			**ETH10**			**ETH225**			**ETH3**			**INRA23**		
Al	**Freq**	**IC +/-**	**Al**	**Freq**	**IC +/-**	**Al**	**Freq**	**IC +/-**	**Al**	**Freq**	**IC +/-**	**Al**	**Freq**	**IC +/-**	**Al**	**Freq**	**IC +/-**
178	0.041	0.001	121	0.003	1E-05	209	0.249	0.00118	140	0.013	0.0003	101	0.003	3E-05	194	0.041	0.0002
180	0.447	0.002	125	0.004	0.0003	211	0.178	0.00113	142	0.010	0.0002	103	0.067	0.0003	196	0.157	0.0004
182	0.436	0.002	127	0.029	0.001	213	0.516	0.00106	144	0.015	0.0002	111	0.003	3E-07	198	0.089	0.0003
184	0.005	3E-04	129	0.155	0.0015	215	0.003	2E-06	146	0.003	5E-05	115	0.440	0.0006	202	0.062	0.0002
188	0.030	8E-04	131	0.005	0.0003	217	0.015	0.0003	148	0.172	0.0006	117	0.458	0.0006	204	0.032	0.0002
190	0.003	1E-04	133	0.042	0.0008	219	0.039	0.00037	150	0.013	0.0003	119	0.013	0.0001	206	0.009	8E-05
192	0.039	7E-04	135	0.156	0.0017	221	0.003	0.00007	152	0.003	6E-07	121	0.003	3E-07	208	0.050	0.0003
			137	0.017	0.0006	225	0.003	1E-06	154	0.036	0.0003	125	0.013	0.0002	210	0.107	0.0003
			139	0.113	0.0012				160	0.738	0.0006	135	0.003	3E-07	214	0.351	0.0005
			141	0.391	0.0015				162	0.003	1E-06				216	0.099	0.0003
			143	0.090	0.0009										218	0.003	6E-07
															222	0.003	2E-05

SPS115			**TGLA122**			**TGLA126**			**TGLA227**			**TGLA53**		
Al	**Freq**	**IC +/-**	**Al**	**Freq**	**IC +/-**	**Al**	**Freq**	**IC +/-**	**Al**	**Freq**	**IC +/-**	**Al**	**Freq**	**IC +/-**
246	0.202	4E-04	137	0.214	0.0003	105	0.003	0.00002	77	0.585	0.0003	154	0.032	0.0001
248	0.427	4E-04	139	0.003	2E-07	109	0.025	0.0001	79	0.049	0.0001	156	0.003	6E-07
250	0.201	4E-04	143	0.068	0.0002	115	0.164	0.00023	81	0.217	0.0002	158	0.026	7E-05
252	0.017	1E-04	145	0.077	0.0002	117	0.106	0.0002	83	0.136	0.0002	160	0.414	0.0003
254	0.040	2E-04	147	0.013	9E-05	119	0.104	0.00023	87	0.003	3E-07	162	0.087	0.0001
256	0.069	2E-04	149	0.103	0.0002	121	0.103	0.0002	89	0.003	3E-07	164	0.042	0.0001
258	0.013	1E-04	151	0.190	0.0002	123	0.237	0.00026	91	0.003	3E-07	166	0.063	0.0001

260	0.027	1E-04	153	0.138	0.0002	125	0.253	0.00023	93	0.007	5E-05	168	0.287	0.0002
262	0.005	5E-05	157	0.034	0.0001	127	0.005	0.00004	95	0.003	4E-07	170	0.015	6E-05
			161	0.069	0.0001	131	0.003	3E-07	97	0.004	3E-05	172	0.007	5E-05
			163	0.008	6E-05							174	0.003	4E-07
			167	0.056	0.0002							176	0.003	5E-07
			169	0.029	0.0001							180	0.003	4E-07
			175	0.003	1E-07							182	0.004	2E-05
												184	0.011	5E-05
												186	0.004	2E-05
												188	0.009	4E-05

Tabla 3. Frecuencias alélicas de 12 microsatélites de la raza Gyr en Colombia.

BM1818		**BM1824**		**BM2113**		**ETH10**		**ETH225**		**ETH3**	
Al	**Freq**	**Al**	**Freq**	**Al**	**Freq**	**Al**	**Freq**	**Al**	**Freq**	**Al**	**Freq**
260	0.005	178	0.065	129	0.300	209	0.220	140	0.165	103	0.065
262	0.115	180	0.385	131	0.015	211	0.010	144	0.040	115	0.775
264	0.365	182	0.285	133	0.005	213	0.705	148	0.010	117	0.155
266	0.198	184	0.080	135	0.330	217	0.005	150	0.045	125	0.005
268	0.109	192	0.185	137	0.125	219	0.050	154	0.235		
270	0.089			139	0.095	221	0.010	160	0.495		
272	0.057			141	0.090			162	0.010		
274	0.021			143	0.040						
280	0.042										

INRA23		**SPS115**		**TGLA122**		**TGLA126**		**TGLA227**		**TGLA53**	
Al	**Freq**	**Al**	**Freq**	**Al**	**Freq**	**Al**	**Freq**	**Al**	**Freq**	**Al**	**Freq**
194	0.005	246	0.204	137	0.375	105	0.031	77	0.770	154	0.010
196	0.040	248	0.464	143	0.080	115	0.041	79	0.055	158	0.020
198	0.120	250	0.296	145	0.010	117	0.015	81	0.075	160	0.485
204	0.055	256	0.036	149	0.140	119	0.224	83	0.010	162	0.015
206	0.055			151	0.050	121	0.071	93	0.070	164	0.041
208	0.215			153	0.285	123	0.464	95	0.005	166	0.051
210	0.160			161	0.050	125	0.122	97	0.015	168	0.153
214	0.320			163	0.010	127	0.005			170	0.020
216	0.030					129	0.026			180	0.071
										182	0.005
										184	0.122
										186	0.005

Tabla 4. Frecuencias alélicas de 11 microsatélites de las poblaciones de brahmán Blanco (BRB) y Brahman Rojo (BRR) en Colombia.

BM1824			BM2113			ETH10			ETH225			ETH3		
Al	**BRB**	**BRR**	**Al**	**BRB**	**BRR**	**Al**	**BRB**	**BRR**	**Al**	**BRB**	**BRR**	**Al**	**BRB**	**BRR**
178	0.058	0.060	125	0.005	0.000	209	0.174	0.337	140	0.000	0.067	101	0.004	0.000
180	0.512	0.260	127	0.018	0.074	211	0.284	0.071	142	0.000	0.048	103	0.042	0.118
182	0.347	0.620	129	0.078	0.316	213	0.470	0.551	144	0.017	0.010	111	0.004	0.000
184	0.004	0.010	131	0.000	0.011	217	0.034	0.010	148	0.210	0.048	115	0.393	0.520
188	0.037	0.010	133	0.023	0.137	219	0.038	0.020	150	0.004	0.010	117	0.540	0.304
192	0.041	0.040	135	0.184	0.116	221	0.000	0.010	152	0.000	0.010	119	0.004	0.029
			137	0.000	0.053				154	0.050	0.019	121	0.004	0.000
			139	0.152	0.042				160	0.718	0.788	125	0.008	0.020
			141	0.452	0.200							135	0.000	0.010
			143	0.088	0.053									

INRA23			SPS115			TGLA122			TGLA126			TGLA227			TGLA53		
Al	**BRB**	**BRR**	**Al**	**BRB**	**BRR**	**Al**	**BRB**	**BRR**	**Al**	**BRB**	**BRR**	**Al**	**BRB**	**BRR**	**Al**	**BRB**	**BRR**
194	0.041	0.040	246	0.245	0.103	137	0.237	0.176	105	0.000	0.010	77	0.509	0.755	154	0.009	0.100
196	0.182	0.129	248	0.401	0.448	139	0.000	0.010	109	0.043	0.000	79	0.048	0.092	158	0.017	0.020
198	0.050	0.158	250	0.212	0.241	143	0.012	0.176	115	0.162	0.172	81	0.287	0.041	160	0.353	0.450
202	0.079	0.010	252	0.005	0.046	145	0.087	0.069	117	0.034	0.232	83	0.148	0.092	162	0.103	0.100
204	0.012	0.069	254	0.038	0.057	147	0.029	0.000	119	0.145	0.051	89	0.000	0.010	164	0.022	0.100
206	0.008	0.020	256	0.052	0.069	149	0.141	0.029	121	0.094	0.091	93	0.000	0.010	166	0.047	0.040
208	0.021	0.139	258	0.005	0.023	151	0.224	0.157	123	0.230	0.222	97	0.009	0.000	168	0.418	0.120
210	0.103	0.119	260	0.033	0.011	153	0.129	0.176	125	0.294	0.222				170	0.000	0.040
214	0.372	0.267	262	0.009	0.000	157	0.004	0.069							172	0.013	0.010
216	0.132	0.040				161	0.025	0.127							174	0.000	0.010
218	0.000	0.010				163	0.008	0.010							184	0.013	0.000
						167	0.075	0.000							188	0.004	0.010
						169	0.029	0.000									

Tabla 5. Variabilidad genética de las poblaciones colombianas de las razas Gyr, Brahman total y las poblaciones Brahman Rojo y Brahman Blanco en Colombia.

		Ae[1]	A[2]	Ho[3]	He[4]	F_{IS}	HW[5]	ICP[6]	PE[7]	PE2[8]
BM1818	Gyr	5	9	0.81	0.79	-0.024	Ns	0.765	0.428	0.607
BM1824	Gyr	4	5	0.77	0.73	-0.056	Ns	0.680	0.313	0.488
	Brahman Total	3	6	0.60	0.62	0.038	Ns	0.542	0.205	0.344
	Brahman Blanco	3	6	0.60	0.61	0.030	Ns	0.542	0.202	0.347
	Brahman Rojo	2	6	0.58	0.55	-0.060	*	0.486	0.157	0.301
BM2113	Gyr	4	8	0.80	0.77	-0.039	Ns	0.732	0.380	0.559

	Brahman Total	4	10	0.75	0.79	0.057	***	0.762	0.423	0.603
	Brahman Blanco	4	8	0.69	0.73	0.060	Ns	0.692	0.331	0.514
	Brahman Rojo	5	9	0.85	0.82	-0.040	Ns	0.787	0.461	0.637
ETH10	Gyr	2	6	0.45	0.45	0.009	Ns	0.401	0.105	0.233
	Brahman Total	3	6	0.63	0.66	0.040	Ns	0.601	0.236	0.401
	Brahman Blanco	3	5	0.68	0.67	-0.010	Ns	0.610	0.246	0.410
	Brahman Rojo	2	6	0.48	0.57	0.167	*	0.494	0.169	0.300
ETH225	Gyr	3	7	0.74	0.67	-0.102	Ns	0.623	0.258	0.431
	Brahman Total	2	8	0.28	0.44	0.353	***	0.403	0.101	0.244
	Brahman Blanco	2	5	0.29	0.44	0.350	***	0.388	0.097	0.223
	Brahman Rojo	2	8	0.25	0.37	0.330	*	0.356	0.075	0.219
ETH3	Gyr	2	4	0.39	0.37	-0.046	Ns	0.337	0.069	0.190
	Brahman Total	2	9	0.53	0.59	0.094	***	0.501	0.179	0.302
	Brahman Blanco	2	8	0.52	0.56	0.072	Ns	0.462	0.157	0.268
	Brahman Rojo	3	6	0.57	0.63	0.100	Ns	0.562	0.210	0.364
INRA23	Gyr	5	9	0.79	0.81	0.021	Ns	0.777	0.444	0.621
	Brahman	5	11	0.78	0.82	0.059	Ns	0.804	0.492	0.665
	Brahman Blanco	5	10	0.74	0.79	0.073	Ns	0.766	0.431	0.610
	Brahman Rojo	6	11	0.84	0.86	0.019	Ns	0.830	0.532	0.698
SPS115	Gyr	3	4	0.68	0.66	-0.040	Ns	0.590	0.226	0.382
	Brahman Total	4	9	0.68	0.73	0.068	***	0.691	0.329	0.508
	Brahman Blanco	4	9	0.72	0.73	0.011	Ns	0.686	0.323	0.500
	Brahman Rojo	4	8	0.58	0.73	0.200	*	0.684	0.326	0.507
TGLA122	Gyr	4	8	0.76	0.75	-0.012	Ns	0.710	0.353	0.531
	Brahman Total	8	13	0.89	0.87	-0.025	Ns	0.848	0.568	0.726
	Brahman Blanco	6	12	0.89	0.85	-0.050	Ns	0.824	0.521	0.688
	Brahman Rojo	7	10	0.86	0.87	0.006	Ns	0.839	0.546	0.710
TGLA126	Gyr	3	9	0.69	0.71	0.028	Ns	0.676	0.316	0.498
	Brahman Total	6	8	0.78	0.82	0.044	*	0.789	0.458	0.633
	Brahman Blanco	5	7	0.80	0.80	0.001	Ns	0.773	0.432	0.610
	Brahman Rojo	5	7	0.69	0.82	0.151	*	0.779	0.439	0.616
TGLA227	Gyr	2	7	0.40	0.40	-0.012	Ns	0.377	0.084	0.231
	Brahman Total	2	6	0.58	0.60	0.021	Ns	0.547	0.193	0.357
	Brahman Blanco	3	5	0.67	0.64	-0.060	Ns	0.576	0.217	0.376
	Brahman Rojo	2	6	0.38	0.39	0.045	Ns	0.367	0.080	0.221
TGLA53	Gyr	4	12	0.71	0.72	0.007	Ns	0.691	0.337	0.524
	Brahman Total	4	12	0.54	0.73	0.265	***	0.689	0.336	0.511
	Brahman Blanco	3	10	0.53	0.69	0.225	***	0.634	0.277	0.443
	Brahman Rojo	4	11	0.54	0.76	0.289	***	0.728	0.382	0.568

1. Alelos efectivos
2. Número de Alelos,
3. Heterocigocidad Observada,
4. Heterocigocidad Esperada,
5. Prueba de Equilibrio Hardy-Weinberg

6. Índice de Contenido Polimórfico
7. Probabilidad de Exclusión cuando está la información de uno sólo de los padres
8. Probabilidad de Exclusión cuando está la información de ambos padres
Ns=No significativo
* P<0.05, *** P<0.001

La tabla 6 muestra los pares de microsatélites que presentaron desequilibrio gamético en cada población. La población que más presenta desequilibrios gaméticos es la de Brahman Rojo y la que menos presentó fue el Gyr. La presencia del BM1824 en la mayoría de desequilibrios en la población del Brahman Blanco requiere análisis posteriores.

Tabla 6. Pares de microsatélites que presentan desequilibrio gamético en la población colombiana de las raza Gyr y las poblaciones Brahman Rojo (BRR) y Brahman Blanco (BRB) en Colombia.

Población	Microsatélite 1	Microsatélite 2	Valor de P
BRB	BM1824	TGLA227	0.0225
BRB	BM2113	ETH225	0.0242
BRB	BM1824	SPS115	0.0316
BRB	BM1824	ETH225	0.0336
BRB	BM1824	INRA23	0.0473
BRR	ETH225	TGLA227	0.0011
BRR	BM1824	BM2113	0.0105
BRR	ETH10	TGLA227	0.0126
BRR	ETH225	ETH3	0.0203
BRR	BM2113	ETH10	0.0212
BRR	ETH10	TGLA126	0.0233
BRR	BM2113	TGLA227	0.0267
GY	ETH10	TGLA227	0.0180

Relaciones genéticas con otras razas

El ACP (Fig. 10) con las frecuencias alélicas reportadas de algunas razas en otras partes del mundo (Tabla 2Sup.) muestra concordancia, en cuanto a los patrones generales, con distintos análisis similares realizados con diferentes tipos de marcadores y con un número más extenso de animales y razas (MacHugh *et al*. 1997, 1998; Egito *et al*. 2007; The Bovine HapMap Consortium *et al*. 2009; Novoa & Usaquén 2010). Las dos poblaciones de la raza Brahman (Novoa & Usaquén 2010 y los datos aquí reportados) mantienen su cercanía entre sí y una leve separación de las demás razas taurinas. Adicionalmente, la posición del Gyr en Colombia muestra diferencia con la raza Gyr reportada en Brasil que la esperada entre poblaciones de la misma raza. Al realizar el ACP (Fig. 11) y el análisis de distancias con base en las frecuencias alélicas (Fig. 12), utilizando las dos poblaciones encontradas dentro del Brahman, se observa que el Brahman Rojo es más cercano genéticamente al Gyr que con el mismo Brahman Blanco. Además, el Brahman Rojo y el Brahman Blanco son más distanciadas genéticamente que la distancia existente entre otras razas cebuinas como entre el Gyr y Guzerá brasileño o entre la raza Nelore con estas dos razas. Este análisis también evidencia la separación genética que existe entre el Gyr en Colombia y el Gyr Brasileño, lo cual requiere análisis posteriores.

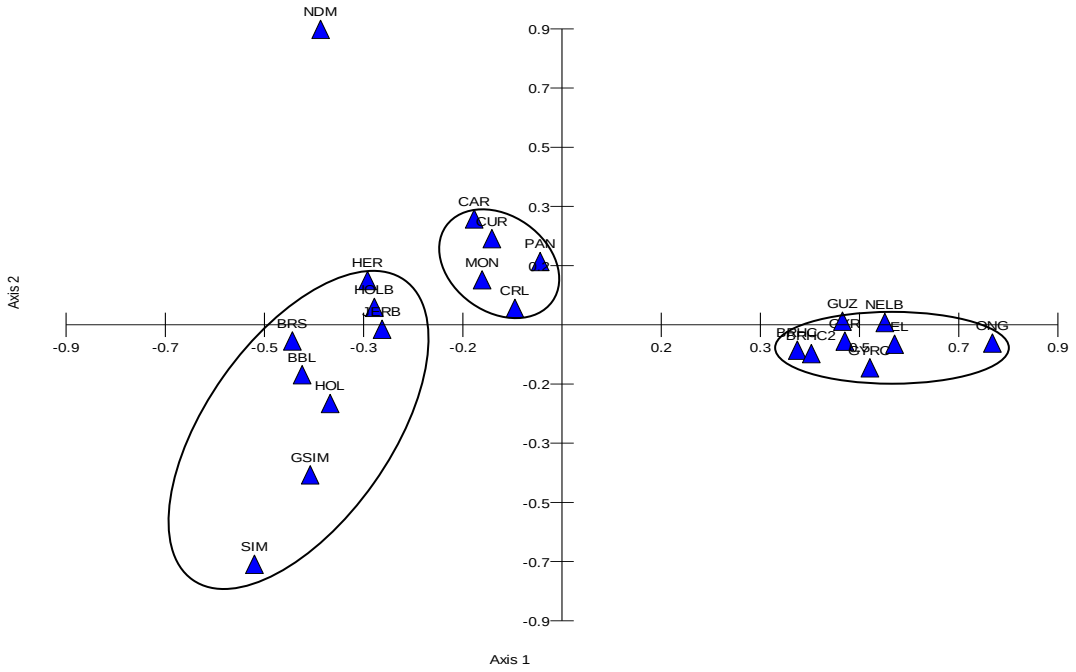


Figura 10. Análisis de Componentes Principales de las frecuencias alélicas de 9 microsatélites de 22 poblaciones diferentes de razas de ganado. Las poblaciones cebuinas colombianas son más cercanas entre sí respecto a las demás razas cebuinas.

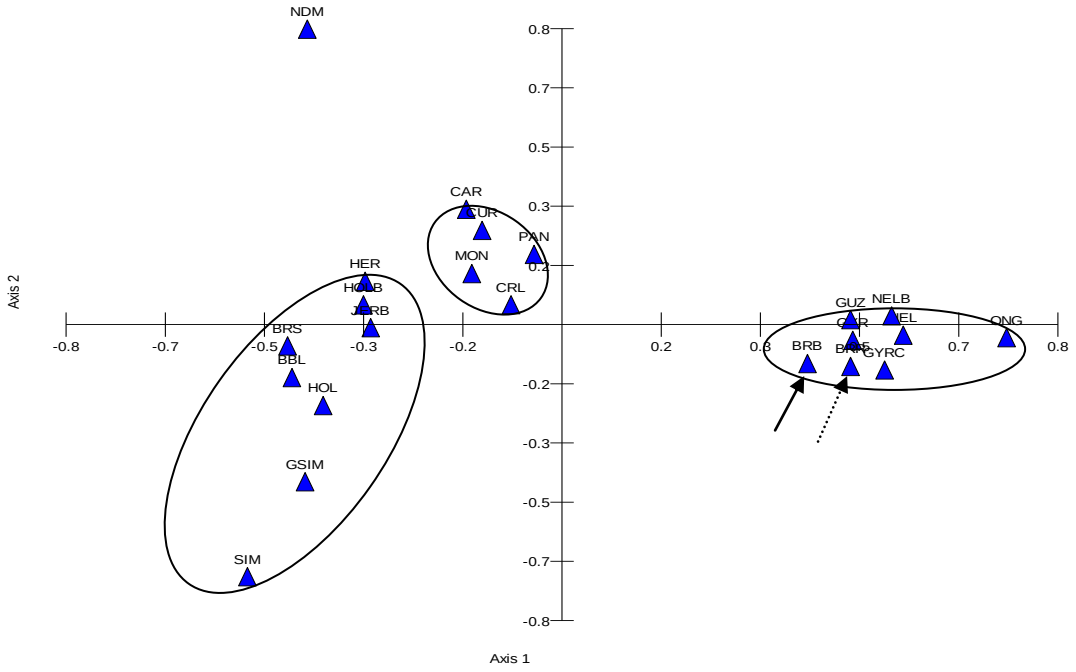


Figura 11. Análisis de Componentes Principales de las frecuencias alélicas de 9 microsatélites de 22 poblaciones diferentes de razas de ganado separando la población de Brahman en las dos poblaciones posibles encontradas señaladas por las flechas. BRR: Brahman Rojo, línea punteada; BRB: Brahman Blanco, línea sólida.

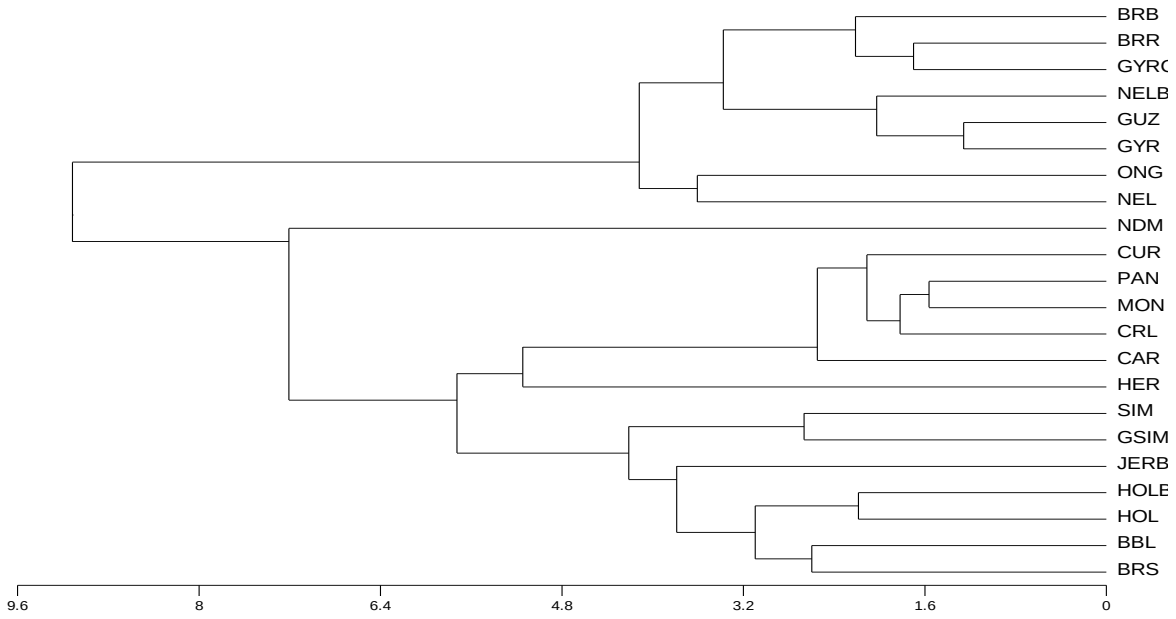


Figura 12. Dendrograma construido con la distancia de cuerda (Cavalli-Sforza y Edwards 1967) y el método UPGMA con las frecuencias alélicas de 9 microsatélites de las poblaciones de razas de ganado analizadas. BRR: Brahman Rojo, BRB: Brahman Blanco.

DISCUSIÓN

El nivel de información genealógica analizado es alto comparado con Faria *et al*. (2009) en las mismas razas en Brasil (excepto para Brahman) las cuales alcanzan para la 6ta generación solo hasta el 8% y 12% (Faria *et al*. 2009) y es similar con la información disponible en algunas razas criollas estudiadas en Colombia (Martínez *et al*. 2008). Particularmente, el nivel de confiabilidad de las estimaciones es adecuado para los siguientes periodos Brahman: Todo el periodo analizado 1992 - 2007, Gyr: entre 1984 – 2007, Guzerá: entre 1980 -2008 y Nelore: 1980 – 1996. En esta última raza, la variación de la información es alta en los últimos años (1997 -2007) debido a la disminución sustancial de la población y en su núcleo reproductivo (Tabla 6 sup).

En los intervalos generacionales (Fig. 1), la tendencia es a aumentar en tres de las razas analizadas (en Guzerá sólo se calculó en todos los años: 8). Estos valores son menores a los reportados en el último periodo de 4 años analizado en las razas cebuinas en Brasil Nelore y Gyr pero similar en la raza Guzerá (Faria *et al*. 2009) y de algunas razas taurinas como el Negro Japonés (Nomura *et al*. 2001) y el Café Japonés (Honda *et al*. 2006). Sin embargo, los valores aquí reportados siguen siendo muy altos comparados con muchas razas taurinas (Gutiérrez *et al*. 2003, Sorensen *et al.* 2005, Mc Parland *et* al. 2007, Martínez *et al*. 2008). Esto se explica por el enfoque reproductivo diferente entre los dos tipos de producción. En las ganaderías de leche, la base genética son las hembras y en las de carne son los machos, en donde las tasas de reemplazo en las hembras, independiente de su uso, es más alta que en los machos reproductores en ganaderías de carne.

En los datos reportados, el IG por vía paterna siempre es más elevado que por vía materna, esto indica que en las últimas 2 décadas el uso de machos más longevos que las hembras es una práctica generalizada. Por otro lado, esto refleja el uso intensivo de algunos reproductores machos, por ejemplo en la raza Gyr, 11 reproductores tienen el 42% de descendientes en la última generación. Para la raza Brahman la tendencia al aumento del IG fue constante hasta el año 2005, pero en el último año analizado el promedio vía paterna aumentó drásticamente (El ΔIG en el 2006 aumentó 4 veces con respecto al año anterior). En el Gyr, es evidente la utilización de muy pocos animales reproductores (Tabla 4sup.) en el periodo entre 1981 y 1990 donde el IG llegó alcanzar 16 años, entre 1991 y 2002 aumentó el número de animales reproductores diferentes de los años anteriores lo que conllevo a una disminución sustancial del IG, sin embargo desde el año 2003, el uso de animales más viejos tanto en machos como en hembras reproductoras ha aumentado en el país y esta tendencia viene en ascenso sustancialmente. Esto refleja la masificación de biotecnologías en la reproducción animal como la fertilización *in vitro* (FIV), la inseminación artificial (IA) y la transferencia de embriones (TE) en estas dos últimas décadas, donde el promedio de nacimientos de animales mediante estas técnicas aumentó en la última década (Comunicación personal Jiménez A., Asocebú). Este aumento del IG incide directamente en el mejoramiento general de parámetros zootécnicos aumentando los tiempos esperados para observar esos cambios favorables en la población, por lo tanto es necesario mantener el monitoreo de estas poblaciones y fomentar el reemplazo de nuevos reproductores para disminuir y estabilizar las tendencias del IG.

Los coeficientes de consanguinidad (F) presentan comportamientos diferentes entre las cuatro razas analizadas. En general el aumento de animales consanguíneos en los últimos años está relacionado con el aumento de los IG, por las mismas causas explicadas anteriormente. Esto muestra el empleo de líneas emparentadas para cruzamientos pero con niveles bajos de consanguinidad, lo cual no afecta por ahora el coeficiente de endogamia en estas poblaciones. Por ese aumento de animales endogámicos en las razas analizadas, para evitar aumentos en la consanguinidad y por ende a un riesgo de endogamia, se recomienda realizar pruebas de coeficiente de "kinship" (Falconer & Mackay 1996) entre los animales que se desean cruzar, entendido como el F de la posible descendencia entre los parentales (Hedrick 2005). Otra alternativa es utilizar los datos moleculares y estimar el parentesco de los individuos mediante índices propuestos en la literatura, por ejemplo el de Queller & Goodnight (1989) o el de Lynch & Ritland (1999). Por otro lado, estos valores son mucho menores de los reportados en estas razas cebú en Brasil (Faria *et al*. 2009) los cuales corresponden para Gyr, Guzerá y Nelore brasileño en 2.28%, 1.75% y 2.13% respectivamente.

La media armónica del Ne (212) según el ΔF para el Brahman, para los últimos 15 años analizados, es un valor alto comparado con lo reportado en otras razas del mundo taurinas (Nomura *et al*. 2001; Honda *et al*. 2006; Gutiérrez *et al*. 2003, Sorensen *et al.* 2005, Mc Parland *et* al. 2007) y cebuinas (Faria *et al*. 2009). Sin embargo, se requiere un monitoreo continuo de este valor, en particular por la disminución que hubo del mismo desde 1996 hasta el 2001 donde disminuyó aproximadamente un poco menos a la cuarta parte de su valor en 1996 y luego mantuvo una regularidad en los últimos 6 años. Esto muestra también el uso intensivo de algunos pocos reproductores como el aumento del IG.

Sólo fue posible obtener un Ne por animales reproductores en las razas Gyr, Guzerá y Nelore debido a valores negativos, cercanos a 0 o erráticos (Nelore) del ΔF a través de los últimos años, lo cual no permite comparar las otras razas cebuinas aquí analizadas con los datos reportados de las mismas en otros estudios, ya que el Ne estimado por sólo el número de parentales no es comparable con el Ne estimado por el ΔF. El comportamiento del ΔF y Ne en el Gyr y Guzerá corresponde al aumento de animales reproductores de nuevas líneas genéticas desde las década de los ochentas, indicando una importación elevada de estas líneas en las últimas décadas. En cuanto a Nelore, esta raza en Colombia muestra una reducción significativa de su población a partir de 1988, lo cual conllevó reducción de su Ne y por ende a la pérdida de la variabilidad genética que pudo haber tenido esta población en Colombia a mediados de los años ochenta.

Los diferentes análisis de estructura genética y de relaciones genéticas (ACP y distancias genéticas) entre poblaciones evidencian una diferenciación genética significativa entre la raza Gyr y Brahman y a la vez dos grupos genéticos diferenciados dentro de la raza Brahman, adicionalmente el grupo Brahman Rojo es más cercano genéticamente con el Gyr (lo que concuerda con el origen mismo de esta población según Sanders 1980) que con el Brahman Blanco (o Gris) y presentan distancias genéticas mayores entre ellas que las presentes entre razas cebuinas brasileñas. Estas diferencias reflejan aislamiento reproductivo, linaje genético ancestral diferente, con una tasa baja de cruzamientos interpoblacionales y objetivos de selección diferentes entre los grupos. Por lo tanto, se podría plantear la existencia de dos razas dentro de lo que se consideraba solamente una, el Brahman en Colombia, las cuales corresponden a linajes diferentes que se relacionan con dos fenotipos distintos de color capa, el Brahman Rojo y sus tonalidades y el Brahman Blanco junto al Gris, teniendo en cuenta que estas poblaciones cumplirían con la mayor parte de elementos descritos por diferentes autores (Revisado por Rodero & Herrera 2000) para ser consideradas como razas. La variación en el color de estos animales probablemente ha permitido seleccionar a los mismos durante más de 60 años bajo unas condiciones ambientales (temperaturas, humedad relativa, parásitos presentes, enfermedades, manejo nutricional, entre otros) propias de nuestro país, sumado a la constancia de los criadores del Brahman en Colombia, al mantener la pureza relativa de las dos poblaciones mediante cruzamientos dirigidos casi exclusivamente entre animales con el mismo color de capa, en otras palabras la interacción entre selección natural y artificial de estas poblaciones, llevó a la consolidación de las diferencias genéticas entre estos dos grupos genéticos. Para catalogar oficialmente al Brahman Rojo y al Brahman Blanco (incluido el Gris) como dos razas diferentes y propias en Colombia, se requieren análisis adicionales en cuanto a marcadores heredados uniparentalmente como los presentes en regiones del cromosoma Y y en la mitocondria, lo cuales permitan argumentar con mayor información la presencia o no de estas dos razas. Adicionalmente, para generar más argumentos para aprobar o rechazar esta hipótesis, se requiere caracterizar morfológica, reproductiva, productiva y fisiológicamente estos dos grupos de manera separada para evaluar y caracterizar estas diferencias fenotípicas. Por otro lado, es posible la existencia de subestructura genética en la población denominada como Brahman Blanco, la diferencia en los resultados entre utilizar los 11 marcadores (K=3) y retirar 2 posibles *outliers* (K=2) podría deberse efectivamente por un sesgo en la utilización de

estos últimos o a la disminución de información genotípica. Esta posible sub estructuración genética haría más complejo el panorama poblacional del Brahman en Colombia. Esto requiere realizar análisis adicionales que incluyan la genotipificación de más microsatélites ubicados en otros cromosomas del genoma bovino.

Adicionalmente, pueden existir animales dentro del Brahman que sean producto del cruzamiento de los 2 grupos genéticos planteados en proporciones diferentes y en diferentes generaciones, lo que dificulta la asignación de un animal a uno u otro grupo genético solamente con su color de capa. Para esto, la asignación de un animal a uno u otro grupo con base en su genotipo se convierte en la herramienta adecuada, sin embrago existirán algunos pocos animales que tengan cerca del 50/50 de ancestría de los 2 grupos genéticos planteados. Para esto conviene aumentar el número de animales como población referente de cada grupo genético (Brahman Rojo y Brahman Blanco) y la posibilidad de aumentar el número y tipo de marcadores genéticos analizados con el fin de asignar con mayor probabilidad el grupo genético al cual tiene mayor pertenencia o ancestría. Pese a esto, es posible realizar una primera asignación a dicho grupo genético con una confiabilidad aceptable con los marcadores genéticos aquí analizados. Esta asignación es una herramienta clave para mantener líneas puras de estas dos posibles razas para que dichas poblaciones sigan diferenciándose genéticamente. El cruzamiento entre animales con una alta ancestría de Brahman Rojo y Blanco (animales catalogados a cada grupo con base en su genotipo) probablemente generará en su descendencia un efecto de heterosis o vigor híbrido en ciertas características cómo se observa actualmente en cruzamientos entre razas distanciadas genéticamente, lo que en ganadería comercial puede ser aprovechado beneficiosamente.

La base genética del color de capa asociados con ese origen de linaje requiere investigaciones posteriores que permitan caracterizar estos grupos también por variaciones en los genes asociados. El color de capa Rojo está caracterizado molecularmente (Robins *et al.* 1993, Klungland *et al.* 1995), el cual se basa en el polimorfismo encontrado del gen MSH o MC1r38 (melanocortin1 receptor) que se encuentra en el locus Extension (*E*). Para el color Blanco y Gris, no se ha descrito molecularmente su base genética en bovinos pero se cree que es otro gen con efecto epistático sobre el *E* y sobre otros genes involucrados.

La muestra del Brahman total presenta mayor número de marcadores en desequilibrio HW por déficit de heterocigotos ($P<<0.001$, $\alpha:0.05$) que la muestra analizada por Novoa & Usaquén (2010) debido a la estructura genética presente en la presente muestra, lo cual se evidencia en particular en el desequilibrio HW de los microsatélites BM2113 y ETH3 en la población de Brahman total pero no cuando se analizan separadamente los grupos del Brahman. Adicionalmente, los criterios de selección de animales utilizados en el presente estudio (Novoa 2010) pueden aumentar el número de marcadores en desequilibrio al considerar la composición real de la población y no por individuos no emparentados como se realizó en el estudio de Novoa & Usaquén (2010). En general las poblaciones de Brahman mostraron un F_{IS} significativo y mayor que la población de Gyr. Este nivel de apareamiento no aleatorio podría evidenciar un proceso de selección artificial con mayor intensidad en el Brahman que en el Gyr. Por otro lado, el F_{IS} más elevado se encontró en la población de Brahman Rojo, probablemente al tener un

menor tamaño poblacional que la población de Brahman Blanco, el apareamiento no aleatorio es más evidente. Adicionalmente, en el Gyr todos los microsatélites analizados se encuentran en equilibrio HW y toda la población presenta un F_{IS} no significativo, lo cual puede mostrar un proceso de selección artificial menor que en la población Brahman, además corresponde con la disminución en el coeficiente de endogamia junto al aumento del Ne (resultados del análisis genealógico) que ha tenido el Gyr en los últimos años.

Los marcadores ETH225 y TGLA53 presentaron desequilibrio HW a través de todas las poblaciones del Brahman así como en la muestra analizada por Novoa & Usaquén (2010). Posiblemente el marcador ETH225 esté sometido a un proceso de *hitchhicking* o barrido selectivo (Hedrick 2005) al presentar una baja variabilidad (sólo 2 alelos efectivos) con una frecuencia muy alta (mayor al 70% en las dos poblaciones) del alelo 160. Se requieren análisis posteriores para argumentar esta hipótesis, por ejemplo la genotipificación y evaluación de microsatélites cercanos en el genoma. El marcador TGLA53 podría presentar una tasa inusual de alelos nulos, particularmente los de mayor tamaño (20 a 30 pb más que los más comunes y que fueron difíciles de genotipificar en su momento) por condiciones de PCR en las genotipificaciones del Brahman, que se mejoraron posteriormente en los análisis del Gyr, para confirmar esto se requiere repetir la genotipificación de algunas de estas muestras para confirmar la presencia de alelos nulos que generen este desequilibrio HW. El análisis de desequilibrio gamético muestra varios pares de microsatélites en desequilibrio probablemente por el *inbreeding* o (valores de F_{IS}) en las dos poblaciones del Brahman lo cual genera dichas asociaciones estadísticas entre alelos de diferentes marcadores localizados en distintos cromosomas. Sin embargo, hay una asociación recurrente en el Brahman Blanco del microsatélite BM1824 con algunos otros marcadores que requieren análisis posteriores para explicar este evento.

La diferencia en el F_{IS} entre las dos muestras generacionales del Brahman, evidencia que el aumento del nivel de apareamiento no aleatorio, homocigocidad es significativo en la población actual del Brahman, lo que está de acuerdo con el aumento del coeficiente de endogamia, de animales endogámicos y a la tendencia en la disminución del Ne en la misma población lo que confirma que se debe realizar un control más exhaustivo en los cruzamientos que se están realizando con el fin de disminuir los niveles de consanguinidad que pueda llevar a la endogamia lo que afectaría los parámetros productivos, reproductivos y de calidad como se ha demostrado en otras razas (Gonzalez-Recio *et al.* 2007; Sorensen *et al.* 2005; Thompson 2000a, 2000b) y que a su vez aumenta la expresión de enfermedades genéticas (Hedrick 2005). Para evaluar estos efectos es recomendable correlacionar medidas de estos parámetros zootécnicos con medidas como la homocigocidad de cada animal o medidas que también toman en cuenta la frecuencia de los alelos (Internal relatedness o *IR*, Amos *et al.* 2001) o la variabilidad y el peso que tienen en esta medida (Homocygosity by Loci o *HL*, Aparicio *et al.* 2006).

La información forense que brindan estos marcadores es adecuada para la identificación genética y la combinación de los mismos garantiza la confiabilidad en la resolución de casos de parentesco que puedan surgir en estas poblaciones. En particular, los cálculos de PE podrían

resolver con mayor precisión los casos de parentesco en el Brahman considerando la pertenencia de los animales al Brahman Rojo o Brahman Blanco.

Los análisis de distancias genéticas y de ACP son congruentes con los estudios realizados anteriormente (MacHugh *et al.* 1997, 1998) en la separación de las razas taurinas y cebuinas y en la posición intermedia de las criollas Brasileñas respecto a estos dos grupos (Egito *et al.* 2007). Adicionalmente, este análisis muestra como el Gyr en Colombia es más cercano a las poblaciones del Brahman en Colombia, siendo más cercano con el Brahman Rojo, que con el Gyr en Brasil. La diferenciación genética entre estas poblaciones de Gyr podría ser causada por las distancias geográficas y condiciones ambientales propias, criterios de selección diferentes en cada población y que durante la historia de la población Gyr en Colombia se hubieran dado ocasionalmente cruzamientos con líneas del Brahman que redujeron el flujo génico entre estas poblaciones. Se requieren análisis adicionales con marcadores uniparentales para confirmar si estas diferencias son más profundas.

REFERENCIAS

Amos W., Wilmer W., Fullard K., Burg T., Croxall J., Bloch D. & Coulson T. (2001) The influence of parental relatedness on reproductive success. Proceedings: Biological Sciences, 268, 2021-2027.

Aparicio J.M., Ortego J. & Cordero P.J. (2006) What should we weigh to estimate heterozygosity, alleles or loci? Molecular Ecology 15, 4659-4665.

Bicalho H.M., Pimenta C.G., Mendes I.K., Pena H.B., Queiroz E.M. & Pena S.D. (2006) Determination of ancestral proportions in synthetic bovine breeds using commonly employed microsatellite markers. Genetics and Molecular Research 5, 432-437.

Blott S.C., Williams J.L. & Haley C.S. (1998) Genetic relationships among European cattle breeds. Animal Genetics 29, 273-282.

Brenneman R.A., Chase C.C., Olson T.A., Riley D.G. & Coleman S.W. (2007) Genetic diversity among Angus, American Brahman, Senepol and Romosinuano cattle breeds. Animal Genetics 38, 50-53.

Cañon J., Alexandrino P., Bessa I., Carleos C., Carretero Y., Dunner S., Ferran N., Garcia D., Jordana J., Laloe D., Pereira A., Sanchez A. & Moazami-Goudarzi K. (2001) Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. Genet.Sel.Evol. 33, 311-332.

Carter A.H. & Cox E.H. (1982) Sheep breeds in New Zeland. En: Wickham, G. A. y M. F. McDonald (Eds.). Sheep Production, 1: 11-38.

Cavalli-Sforza L.L. & Edwards A.W.F. (1967) Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. Evolution 21, 3, 550-570.

Cavalli-Sforza L.L., Menozzi P. & Piazza A. (1994) The History and Geography of Human Genes. Princeton University Press, Princeton, NJ.

Cervini M., Henrique-Silva F., Morati N. & Matheucci-Jr E. (2006) Genetic variability of 10 microsatellite markers in the characterization of Brazilian Nellore cattle (*Bos indicus*). Genetics and Molecular Biology 29, 486-490.

Dobzhansky T. (1941) Genetics and the origin of species. Nueva York. Columbia University Press

Edwards C.J., Baird J.F. & MacHugh D.E. (2000) Taurine and zebu admixture in Near Eastern cattle: a comparison of mitochondrial, autosomal and Y-chromosomal data. Animal Genetics 0. Short Communication.

Egito A.A., Paiva S.R., Albuquerque M.S., Mariante A.S., Almeida L.D., Castro S.R. & Grattapaglia D. (2007) Microsatellite based genetic diversity and relationships among ten Creole and commercial cattle breeds raised in Brazil. BMC Genetics 8, 83.

Excoffier, L. and H.E. L. Lischer (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources. In press.

Falconer D.S. & Mackay T.F.C. (1996) Introduction to Quantitative Genetics, Ed 4. Longmans Green, Harlow, Essex, UK.

FAO. (2007) The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Barbara Rischkowsky & Dafydd Pilling. Rome.

Faria F., Vercesi Filho A., Madalena F. & Josahkian, L. (2009) Pedigree analysis in the Brazilian Zebu breeds. Journal of Animal Breeding and Genetics, 126, 148-53.

Freeman A.R., Meghen C.M., MacHugh D.E., Loftus R.T., Achukwi M.D., Bado A., Sauveroche B. & Bradley D.G. (2004) Admixture and diversity in West African cattle populations. Molecular Ecology 13, 3477-3487.

Gonzalez-Recio O., Lopez d.M. & Gutierrez J.P. (2007) Inbreeding depression on female fertility and calving ease in Spanish dairy cattle. J.Dairy Sci. 90, 5744-5752.

Gutiérrez J., Altarriba J., Diaz C., Quintanilla R., Cañon J. & Piedrafita J. (2003) Pedigree analysis of eight Spanish beef cattle breeds. Genetics Selection Evolution, 35, 45-63.

Hedrick P.W. (2005) Genetics of Populations. 3rd edition. Jones and Bartlett publishers. United States of America.

Honda T., Fuji T., Nomura T. & Mukai F. (2006) Evaluation of genetic diversity in Japanese Brown cattle population by pedigree analysis. Journal of Animal Breeding and Genetics, 123, 172-179.

Ibeagha-Awemu E.M., Jann O.C., Weimann C. & Erhardt G. (2004) Genetic diversity, introgression and relationships among West/Central African cattle breeds. Genet.Sel Evol. 36, 673-690.

Ibeagha-Awemu E.M. & Erhardt G. (2005) Genetic structure and differentiation of 12 African *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle breeds, inferred from protein and microsatellite polymorphisms. J Anim Breed.Genet. 122, 12-20.

Jamieson A. (1994) The effectiveness of using co-dominant polymorphic allelic series for (1) checking pedigrees and (2) distinguishing full-sib pair members. In: Festschrift in Honour of Dr Clyde J. Stormont. Animal Genetics 25 (Supplement 1), 37–44.

Jamieson A. & Taylor S.C. (1997) Comparisons of three probability formulae for parentage exclusion. Animal Genetics 28, 397-400.

Kantanen J., Olsaker I., Holm L.E., Lien S., Vilkki J., Brusgaard K., Eythorsdottir E., Danell B. & Adalsteinsson S. (2000) Genetic diversity and population structure of 20 North European cattle breeds. The Journal of heredity 91, 446-457.

Kumar P., Freeman A.R., Loftus R.T., Gaillard C., Fuller D.Q. & Bradley D.G. (2003) Admixture analysis of South Asian cattle. Heredity 91, 43-50.

Klungland H., Vage D.I., Gomez-Raya L., Adalsteinsson S. & Lien S. (1995) The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. Mammalian Genome, 6, 636-639.

Li M.H., Tapio I.L.M.A., Vilkki J.O.H.A., Ivanova Z.O.Y.A., Kiselyova T.A.T.Y., Marzanov N.U.R.B., Cinkulov M.I.R.J., Stojanovic S.R.D.J., Ammosov I.N.N.O., Popov R.U.S.L. & Kantanen J.U.H.A. (2007) The genetic structure of cattle populations (*Bos taurus*) in northern Eurasia and the neighbouring Near Eastern regions: implications for breeding strategies and conservation. Molecular Ecology 16, 3839-3853.

Loftus R.T., MacHugh D. E., Bradley D. G., Sharp P. M. & Cunningham P. (1994) Evidence for two independent domestications of cattle. Proc.Natl.Acad.Sci U.S.A 91, 2757-2761.

Luikart G., England P.R., Tallmon D., Jordan S. & Taberlet P. (2003) The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing. Nature Reviews Genetics 4, 981-994.

Lynch M. & Ritland K. (1999) Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. Genetics, 152, 1753.

MacHugh D.E., Loftus R.T., Bradley D.G., Sharp P.M. & Cunningham P. (1994) Microsatellite DNA variation within and among European cattle breeds. Proceedings. Biological sciences / The Royal Society 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 phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). Genetics 146, 1071-1086.

MacHugh D.E., Loftus R.T., Cunningham P. & Bradley D.G. (1998) Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers. Animal Genetics 29, 333-340.

Manel S., Schwartz M.K., Luikart G. & Taberlet P. (2003) Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. Trends in Ecology & Evolution 18, 189-197.

Marshall T.C., Slate J., Kruuk L.E. & Pemberton J.M. (1998) Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. Molecular Ecology 7, 639-655.

Martinez R., Garcia D., Gallego J., Onofre G., Perez J. & Cañon J. (2008) Genetic variability in Colombian Creole cattle populations estimated by pedigree information. Journal of animal science, 86, 545.

Mc Parland S., Kearney J., Rath M. & Berry D. (2007) Inbreeding trends and pedigree analysis of Irish dairy and beef cattle populations. Journal of animal science, 85, 322.

Meirelles F.V., Rosa A.J.M., Lôbo R.B., Garcia J.M., Smith L.C., & Duarte F.A.M. (1999) Is the zebu really *Bos indicus*? Genetics and Molecular Biology 22, 4, 543-546.

Metta M., Kanginakudru S., Gudiseva N. & Nagaraju J. (2004) Genetic characterization of the Indian cattle breeds, Ongole and Deoni (*Bos indicus*), using microsatellite markers - a preliminary study. BMC. Genetics 5, 16

Moazami-Goudarzi K., Lalöe D., Furet J.P. & Grosclaude F. (2003) Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. Animal Genetics 28, no. 5: 338-345.

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

Nomura T., Honda T. & Mukai F. (2001) Inbreeding and effective population size of Japanese Black cattle. Journal of Animal Science 79, 366-370.

Novoa MA. (2010) Efectos de métodos de muestreo sobre la estimación de parámetros genético-poblacionales y validación de bases de datos genotípicas para estudios poblacionales de razas bovinas. Tesis de maestría. Parte A. Facultad de Ciencias. Biología. Universidad Nacional de Colombia.

Novoa MA. & Usaquén W. (2010). Population genetic analysis of the Brahman cattle (*Bos indicus*) in Colombia with microsatellite markers. Journal of Animal Breeding and Genetics. 127, 2, 161 – 168.

Page R.D. (1996) TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. Computer Applications in the Biosciences 12, 357-358.

Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155, 945-959

Queller D. & Goodnight K. (1989) Estimating Relatedness Using Genetic Markers. Evolution, 43, 258-275.

Raymond M. & Rousset F. (1995) An exact test for population differentiation. Evolution 49, 1280-1283.

Robbins L.S., Nadeau J.H., Johnson K.R., Kelly M.A., Roselli-Rehfuss L., Baack E., Mountjoy K.G. & Cone R.D. (1993) Pigmentation phenotypes of variant extension locus alleles result from point mutations that alter MSH receptor function. Cell, 72, 827-834.

Rodero E. & Herrera M. (2000) The breed concept. A epistemological approach. Archivos de zootecnia vol. 49, núm. 185-186, p. 13.

Rodríguez J.M. (1993) Razas Bovinas en Colombia. Bogotá, Colombia.

Sanders J.O. (1980) History and Development of Zebu Cattle in the United States. Journal of Animal Science 50, no. 6, 1188-1200.

Sorensen A.C., Sorensen M.K. & Berg P. (2005) Inbreeding in Danish dairy cattle breeds. J.Dairy Sci. 88 , 1865-1872.

Takezaki N. & Nei M. (1996) Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. Genetics 144, 389-399.

The Bovine HapMap Consortium et al. (2009) Genome-Wide Survey of SNP Variation Uncovers the Genetic Structure of Cattle Breeds. Science 324, 528-532.

Thompson J.R., Everett R.W. & Wolfe C.W. (2000a) Effects of inbreeding on production and survival in Jerseys. J.Dairy Sci. 83, 2131-2138.

Thompson J.R., Everett R.W. & Hammerschmidt N.L. (2000b) Effects of inbreeding on production and survival in Holsteins. J.Dairy Sci. 83, 1856-1864.

Troy C.S., MacHugh D.E., Bailey J.F., Magee D.A., Loftus R.T., Cunningham P., Chamberlain A.T., Sykes B.C., Bradley D.G. (2001) Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. Nature 410: 1088-1091.

Turton J.D. (1974) The collection storage and dissemination of information on breeds of livestock. En: Proceeding 1st World Congress on Genetic and Applied Livestock Production. Vol II: 61-74. Madrid.

Weir B.S. & Cockerham C.C. (1984) Estimating F statistics for the analysis of population structure. Evolution 38, 1358-1370.

ANEXOS.

Tabla 1 suplementaria. Distribución de los animales de las razas Brahman y Gyr escogidos por departamento en Colombia.

Departamento	Brahman	Gyr
ANTIOQUIA	61	16
ATLÁNTICO	1	
BOLÍVAR	1	
BOYACÁ	2	
CALDAS	2	1
CAQUETÁ		2
CASANARE	3	
CESAR	15	2
CÓRDOBA	36	30
CUNDINAMARCA	18	4
HUILA	1	3
MAGDALENA	2	
META	6	2
NORTE DE SANTANDER	1	
PUTUMAYO		9
RISARALDA	1	
SANTANDER	8	
SUCRE	7	
TOLIMA	7	9
VALLE DEL CAUCA	8	22

Tabla 2 suplementaria. Lista de razas taurinas y cebuinas empleadas en este estudio.

Geographic origin	Subspecies	Breed	Code	Number of animals
Belgium	European-Taurine	Belgian Blue[1]	BBL	100
Colombia	American-Zebuine	Brahman[6]	BRHC	178
Colombia	American-Zebuine	Brahman[7]	BRHC2	180
Colombia	American-Zebuine	Gyr[7]	GYRC	100
Switzerland	European-Taurine	Brown Swiss[1]	BSW	50
Germany	European-Taurine	German Simmental[1]	GSIM	50
Brazil	Asian-Zebuine	Nellore[3]	NEL	200
Poland	European-Taurine	Hereford[4]	HER	56
Belgium	European-Taurine	Holstein[1]	HOL	100
Belgium	African-Taurine	N'Dama[1]	NDA	50
India	Asian-Zebuine	Ongole[1]	ONG	60
Brazil	American-Taurine	Caracu[5]	CAR	77
Brazil	American-Taurine	Criollo Lageano[5]	CRL	100
Brazil	American-Taurine	Curraleiro[5]	CUR	99
Brazil	American-Taurine	Mocho Nacional[5]	MON	97
Brazil	American-Taurine	Pantaneiro[5]	PAN	96
Brazil	European-Taurine	Holstein[5]	HOLB	100
Brazil	European-Taurine	Jersey[5]	JERB	54
Brazil	Asian-Zebuine	Gyr[5]	GYR	98
Brazil	Asian-Zebuine	Guzerá[5]	GUZ	100
Brazil	Asian-Zebuine	Nellore[5]	NELB	94
Switzerland	European-Taurine	Simmental[1]	SIM	50

[1] Roslin Institute database
[2] Bicalho *et al.* (2006)
[3] Cervini *et al.* (2006)
[4] Radko *et al.* (2005)
[5] Egito *et al.* (2007)
[6] Novoa & Usaquén (2010)
[7] Datos de este estudio

Tabla 3 suplementaria. Número de machos y hembras reproductoras por año de nacimiento de su descendencia para la raza Brahman en Colombia. Births, número de machos o hembras con descendencia en ese año. Select, número de machos o hembras cuya descendencia fueron seleccionados también para ser reproductores en años siguientes. Por ejemplo en machos, para la raza Brahman en el año 2003, 3039 machos produjeron 38293 descendientes, mientras que descendientes de 1986 de esos machos fueron seleccionados para ser padres en las siguientes generaciones.

Year	males			females			Number of animals
	services	births	select	services	births	select	born
1992	-	2351	1717	-	24139	9643	28579
1993	-	2562	1816	-	26739	9935	30409
1994	-	2707	1808	-	31237	10424	33842
1995	-	3081	1956	-	35153	10455	37565
1996	-	3273	1926	-	37606	10661	40248
1997	-	3238	2016	-	37550	10491	40084
1998	-	2938	1860	-	35083	10158	37362
1999	-	2804	1850	-	34037	10492	36521
2000	-	2731	1898	-	31449	10215	33601
2001	-	2820	2023	-	31591	10755	33852
2002	-	2906	2062	-	33926	10919	36212
2003	-	3039	1986	-	36172	10056	38293
2004	-	3047	1593	-	38828	6789	42877
2005	-	3227	386	-	41148	832	47502
2006	-	3305	10	-	41960	11	48797
2007	-	3310	2	-	40943	2	47302
Total	-	23632	16360	-	242423	129724	613046

Tabla 4 suplementaria. Número de machos y hembras reproductoras por año de nacimiento de su descendencia para la raza Gyr. Por ejemplo en machos, para la raza Gyr en el 2002, 107 machos produjeron 688 descendientes en ese año, mientras que descendientes de 76 de esos machos fueron seleccionados para ser padres en las siguientes generaciones.

Year	males			females			Number of animals
	services	births	select	services	births	select	born
1956	-	1	1	-	2	2	10
1960	-	1	1	-	1	1	11
1965	-	1	1	-	1	1	10
1966	-	1	1	-	1	1	3
1968	-	3	3	-	3	3	38
1970	-	19	19	-	22	20	112
1971	-	4	4	-	5	4	10
1972	-	11	11	-	13	13	21
1973	-	4	4	-	2	2	7
1974	-	6	5	-	7	6	14
1975	-	5	5	-	6	5	12
1976	-	2	1	-	3	2	7
1977	-	4	4	-	8	5	12
1978	-	37	35	-	55	52	113
1980	-	19	17	-	19	17	31
1981	-	4	4	-	4	4	8
1982	-	10	8	-	10	9	14
1983	-	5	5	-	8	8	8
1984	-	9	8	-	12	10	16
1985	-	13	13	-	13	13	16
1986	-	12	12	-	17	17	22
1987	-	19	18	-	30	28	35
1988	-	13	11	-	15	13	23
1989	-	22	20	-	37	33	47
1990	-	26	24	-	44	42	57
1991	-	30	29	-	64	54	85
1992	-	59	54	-	116	104	156
1993	-	59	55	-	93	83	121
1994	-	59	50	-	129	84	152
1995	-	72	50	-	175	96	216
1996	-	82	62	-	234	127	312
1997	-	79	64	-	286	151	387
1998	-	91	78	-	314	199	436
1999	-	101	91	-	343	207	454
2000	-	118	102	-	444	284	580
2001	-	116	89	-	534	272	666
2002	-	107	76	-	555	268	688
2003	-	129	86	-	893	355	1039
2004	-	129	81	-	969	314	1250
2005	-	141	50	-	1081	121	1299
2006	-	153	5	-	1288	7	1764
2007	-	163	1	-	1463	1	2392
2008	-	154	1	-	947	1	1310
Total	-	1330	1104	-	5995	3570	14017

Tabla 5 suplementaria. Número de machos y hembras reproductoras por año de nacimiento de su descendencia para la raza Guzerá.

Year	males			females			Number of animals
	services	births	select	services	births	select	born
1956	-	13	11	-	15	14	31
1958	-	1	1	-	2	2	3
1960	-	8	8	-	13	13	17
1965	-	2	2	-	4	3	4
1967	-	13	12	-	18	16	36
1968	-	11	11	-	15	15	33
1969	-	1	1	-	2	1	8
1970	-	50	46	-	95	87	193
1971	-	5	5	-	11	11	15
1972	-	7	7	-	11	9	24
1976	-	2	2	-	1	1	5
1977	-	11	10	-	20	18	30
1978	-	71	69	-	143	129	257
1979	-	23	22	-	30	30	67
1980	-	45	44	-	74	65	133
1981	-	11	8	-	55	31	64
1982	-	22	20	-	105	61	112
1983	-	13	9	-	113	42	119
1984	-	22	17	-	119	52	139
1985	-	26	19	-	140	53	160
1986	-	25	18	-	146	49	156
1987	-	29	21	-	173	81	180
1988	-	35	21	-	148	52	158
1989	-	33	23	-	135	62	149
1990	-	46	32	-	199	74	217
1991	-	49	33	-	196	87	209
1992	-	57	49	-	188	122	205
1993	-	29	26	-	116	58	122
1994	-	53	37	-	181	89	195
1995	-	48	37	-	273	114	287
1996	-	44	29	-	248	119	284
1997	-	44	36	-	268	139	353
1998	-	64	52	-	292	147	329
1999	-	72	61	-	366	213	415
2000	-	75	54	-	403	203	463
2001	-	60	44	-	423	190	471
2002	-	80	51	-	510	189	579
2003	-	101	62	-	683	185	742
2004	-	92	52	-	731	160	848
2005	-	79	25	-	801	61	994
2006	-	92	2	-	779	4	1076
2007	-	99	-	-	789	-	917
2008	-	76	-	-	411	-	454
Total	-	1054	865	-	4699	2895	11274

Tabla 6 suplementaria. Número de machos y hembras reproductoras por año de nacimiento de su descendencia para la raza Nelore.

Year	males			females			Number of animals
	services	births	select	services	births	select	born
1956	-	2	1	-	2	-	13
1960	-	1	-	-	1	-	12
1963	-	1	1	-	1	1	1
1964	-	1	1	-	1	1	2
1965	-	1	1	-	1	1	3
1966	-	1	1	-	1	1	6
1967	-	1	1	-	2	1	13
1968	-	7	7	-	9	9	34
1969	-	2	2	-	2	2	8
1970	-	8	5	-	10	5	114
1971	-	7	7	-	8	8	24
1972	-	2	2	-	3	3	22
1973	-	10	9	-	11	9	15
1974	-	5	5	-	4	4	7
1975	-	6	5	-	7	6	19
1976	-	16	13	-	14	13	25
1977	-	26	25	-	56	56	70
1984	-	73	37	-	403	124	488
1985	-	81	50	-	411	111	479
1986	-	82	27	-	416	63	489
1987	-	78	36	-	475	63	530
1988	-	81	23	-	492	49	537
1989	-	54	15	-	303	41	323
1990	-	38	12	-	166	29	203
1991	-	28	5	-	124	24	132
1992	-	23	5	-	103	11	115
1993	-	28	10	-	167	13	174
1994	-	32	3	-	133	3	139
1995	-	23	2	-	108	2	110
1996	-	12	-	-	53	-	55
1997	-	11	2	-	39	2	39
1998	-	5	-	-	10	-	34
1999	-	2	-	-	2	-	2
2000	-	1	1	-	1	1	1
2001	-	4	2	-	6	2	6
2002	-	3	2	-	3	2	5
2003	-	1	1	-	2	2	2
2004	-	1	-	-	2	-	4
2005	-	2	-	-	5	-	20
2006	-	3	-	-	10	-	30
2007	-	3	-	-	13	-	21
2008	-	6	-	-	8	-	11
Total	-	563	467	-	2441	1293	6078

CONCLUSIONES FINALES

El muestreo en poblaciones es un punto crucial en los estudios que apuntan a caracterizar dichas poblaciones, en un momento definido de su historia evolutiva, mediante la estimación de diferentes parámetros. En animales domésticos, en particular en bovinos, se cuenta con información adicional como las genealogías y algunas medidas zootécnicas. Esta información se puede emplear, como lo demostramos en esta investigación, para estimar con mayor confiabilidad algunos parámetros genético poblacionales (niveles de apareamiento aleatorio FIS, diversidad genética y estructura genética) que los análisis basados en un muestreo aleatorio simple o de la selección de animales no emparentados. Buena parte de los estudios genético poblacionales en estas razas domésticas están basados en muestreos de animales no emparentados, lo cual puede estar sesgando los resultados encontrados a la luz de las conclusiones presentadas en este trabajo.

Adicionalmente, considerando esta información genealógica es posible seleccionar genotipos almacenados en bases de datos, bases que son producto de servicios de genotipificación por parte de laboratorios, empresas y universidades alrededor del mundo, para utilizarlos en estudios genético poblacionales y obtener resultados confiables. Esto permitirá, en primer lugar utilizar dicha información con base en una metodología propuesta por vez primera, para la selección adecuada de ejemplares, reducir costos en cuanto a la toma de muestra de animales dispersos en áreas geográficas apartadas y realizar un seguimiento generacional más exhaustivo considerando que estas poblaciones domésticas presentan cambios evolutivos acelerados por procesos de selección artificial y natural combinados. Esta metodología es susceptible en ser aplicada, además de otras poblaciones y razas bovinas, a otras especies domésticas que cuentan con información de las genealogías como equinos, caprinos, caninos y porcinos, entre otros.

Las poblaciones de Gyr y Brahman en Colombia son significativamente diferentes en los microsatélites analizados, lo cual refleja aislamiento reproductivo entre estas lo que incide en un bajo flujo génico y un proceso de selección artificial con diferentes direcciones y niveles. Por otro lado, existe evidencia significativa de la presencia de dos poblaciones genéticamente diferentes dentro del Brahman en Colombia que podrían catalogarse como dos razas o subrazas distintas, el Brahman Blanco/Gris y el Brahman Rojo. Esto tiene una especial incidencia en el contexto mundial en cuanto a que es el primer reporte con evidencia genética que plantea la posibilidad de que haya surgido una nueva raza en Colombia bajo un proceso de selección artificial de los criadores en nuestro país durante los últimos 60 a 70 años. Adicionalmente, frente a la coyuntura internacional de una alta pérdida anual de razas domésticas de diferentes especies (FAO 2007) este trabajo se convierte en una guía para una adecuada caracterización y seguimiento de estas razas.

Con el fin de conservar los núcleos de las posibles razas encontradas se pueden emplear las metodologías realizadas y descritas en este estudio para asignar los ejemplares reproductores a una de las poblaciones e identificar los ejemplares producto de la mezcla de animales provenientes de diferentes líneas genéticas. Este tipo de prácticas asegurará que se consoliden estas potenciales razas como diferentes, convirtiéndose en desarrollos propios de los ganaderos

de nuestro país lo cual les dará un valor agregado en los mercados internacionales. Adicionalmente, las diferencias genéticas encontradas entre y dentro de las razas, la identificación y asignación de los animales mediante análisis genéticos a cada población permite que la Universidad Nacional de Colombia y demás empresas y laboratorios que brindan este tipo de servicios realicen con mayor confiabilidad cálculos estadísticos para resolver casos de parentesco y forenses en dichas poblaciones colombianas.

La raza Brahman está bajo un proceso de selección intensiva y tiende al aumento en la consanguinidad mediante el apareamiento no aleatorio de los animales en los últimos años. En particular la población de Brahman Rojo presenta una alta consanguinidad respecto a la población Brahman Gris/Blanco, esto lleva a la necesidad de utilizar información molecular complementaria a la genealógica para el diseño de los cruzamientos que se están realizando en el país, mediante análisis genéticos y genealógicos específicos que permita mantener o aumentar la variabilidad genética presente en estas poblaciones en el país. Esto se convierte en una herramienta para los criadores de estas razas para manejar la consanguinidad dentro de sus propiedades, además es necesario realizar análisis posteriores que evalúen la posible asociación entre niveles de variabilidad genética con algunos parámetros de calidad, producción o reproducción, lo cual implicaría implementar esquemas de selección a partir de estos marcadores moleculares.

Adicionalmente, este análisis muestra como el Gyr en Colombia es más cercano a las poblaciones del Brahman en Colombia, siendo más cercano con el Brahman Rojo, que con el Gyr y demás razas cebú en Brasil. En general las poblaciones de cebú analizadas en Colombia muestran distancias genéticas apreciables respecto a las poblaciones cebú en Brasil. Estas diferencias podrían reflejar un aislamiento reproductivo causado entre otros aspectos por distancias geográficas, condiciones ambientales propias (alimentación, clima, enfermedades...), criterios de selección diferentes en cada población y que durante la historia de la población Gyr en Colombia se hubieran dado ocasionalmente cruzamientos con líneas del Brahman que aumentaron el flujo génico entre estas poblaciones y por lo tanto son más similares genéticamente entre sí. Adicionalmente, reflejan el liderazgo de nuestro país en cuanto a poseer un mayor número de reproductores nacionales y a la disminución de germoplasma foráneo.

La raza Gyr presenta niveles de consanguinidad y homocigocidad no significativos en la población e incluso tiende a la disminución de los mismos. Esto refleja una población de reproductores suficiente para mantener niveles de diversidad genética adecuados que permiten brindarle una potencialidad evolutiva y una base genética para obtener resultados favorables en programas de mejoramiento genético.

La población Nelore en Colombia presenta una disminución sustancial de su población en los últimos 20 años que ha conllevado probablemente a una disminución y deterioro de la variabilidad genética existente en los años anteriores.

No existen diferencias genéticas significativas entre las dos muestras generacionales analizadas del Brahman en Colombia. A excepción de un marcador posiblemente asociado a un gen o genes relacionados con peso al nacimiento y marmoreo, según lo descrito en la literatura, que puede estar bajo un proceso de selección en la última generación.

Finalmente, este tipo de trabajos que caracterizan con rigurosidad los parámetros genéticos de estas poblaciones domésticas, de su estructura genética, distribución en áreas geográficas y de su historia evolutiva, al ser especies proclives a procesos de selección molecular mediante el empleo de QTL´s, QTG´s, marcadores genéticos tipo Snp´s dentro de genes identificados, estos trabajos sientan las bases para analizar con alta confiabilidad este tipo de estudios de marcadores y estudios de asociación al reducir el error propio en los modelos estadísticos, minimizar el sesgo y evaluar adecuadamente los posibles efectos de estos marcadores sobre características fenotípicas, las cuales pueden impulsar y acelerar el mejoramiento de las razas domésticas, en principio bovinas, en Colombia.

RECOMENDACIONES

Se recomienda el empleo de información molecular complementaria a la genealógica para el diseño de los cruzamientos que se están realizando en el país, que permita mantener o aumentar la variabilidad genética presente en el país para la raza Brahman.

Es necesario realizar la caracterización molecular de las otras razas cebú presentes en Colombia para, entre otros aspectos, esclarecer las relaciones genéticas entre las poblaciones cebú en Colombia.

Para ampliar los argumentos sobre la existencia de las posibles razas Brahman Blanco y Brahman Rojo es necesario realizar análisis genéticos adicionales con marcadores moleculares uniparentales, junto a una caracterización fenotípica por parte de Asocebú que diferencie las dos posibles razas. Adicionalmente, se requiere analizar un panel más numeroso de marcadores microsatélites para evaluar la posible presencia de dos subpoblaciones genéticamente distintas dentro del Brahman Gris/Blanco en Colombia.

AGRADECIMIENTOS

A mi esposa Eleonora, a mis padres Nidya Mabel, Miguel Angel, mis hermanos Nidya Isabel, Delfín, Andrés Felipe, Juan Miguel y a la familia de Eleonora, a todos por su amor, apoyo y colaboración.
Al laboratorio de Identificación del Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia por su confianza y colaboración en el desarrollo de la parte de laboratorio de este proyecto. A Asocebú, por brindarnos la información genealógica y por la ayuda en la interpretación en parte de los resultados genealógicos. A la Universidad Nacional de Colombia, específicamente a la DIB por el apoyo económico otorgado en la convocatoria para apoyo a trabajos de posgrado (2008).