

# DISTANCIAS GENÉTICAS ENTRE DOS POBLACIONES DE BOVINOS CRIOLLOS PARAGUAYOS

## GENETIC DISTANCES BETWEEN TWO CATTLE CREOLES POPULATIONS OF PARAGUAY

Martínez-López O.R.<sup>1,2\*</sup>, Barbosa S.B.P.<sup>2</sup>, Martínez A.M.<sup>3</sup>, Delgado J.V.<sup>3</sup>, Landi V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dirección General de Investigación Científica y Tecnológica. Universidad Nacional de Asunción, Paraguay. \*rzgpy.invest@gmail.com.

<sup>2</sup>PDIZ - Departamento de Zootecnia. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Genética. Universidad de Córdoba, España.

**Keywords:** Creole Pampa Chaqueño; Creole Pilcomayo; Bovine Autochthones; Population genetics.

**Palabras clave:** Criollo Pampa Chaqueño; Criollo Pilcomayo; Bovino Autóctono; Genética de poblaciones.

### ABSTRACT

The Pampa Chaqueño (PCH) and the Criollo Pilcomayo (CNE) are two of the four bovine groups with Creole characteristics of Paraguay. Neither of the two populations has the status of a creole race in the country, nor do they have conservation programs. The (PCH) has a coloration and distribution in the body, similar to the Hereford breed (HER), reason why it is considered a less productive offspring and at the time it was rejected as a creole breed. However, the (PCH) has productive characteristics for the difficult conditions of the Paraguayan Chaco, as well as the (CNE) in flooded and low areas. In this work, the genetic distances between the two Creole bovine populations of Paraguay (PCH) and (CNE) were analyzed, in addition to the Hereford breed (HER), collected in Paraguay. Hair was extracted from 95, 36 and 30 animals (PCH, CNE and HER) respectively, for DNA analysis using the PCR technique and a panel of 27 microsatellites. In order to know the level of genetic differentiation, the  $F_{ST}$  statistics were determined by different methods, the genetic distances  $D_S$  and  $D_A$  of Nei, and the distance of Reynolds, to later build individual trees through the program POPULATIONS 1.2.28. The lowest distances were observed between the pair of populations, Pampa Chaqueño and Hereford, and Pamapa Chaqueño and Criollo Pilcomayo, respectively. However, the difference among the values registered between these two pairs of populations was little. The greatest distance was between the populations Criollo Pilcomayo and Hereford, which always presented considerable values.

### RESUMEN

El Pampa Chaqueño (PCH) y el Criollo Pilcomayo (CNE) son dos de los cuatro grupos bovinos con características criollas del Paraguay. Ninguna de las dos poblaciones presenta estatus de raza criolla en el país, ni disponen de programas de conservación. El (PCH) presenta una coloración y una distribución en el cuerpo, similar a la raza Hereford (HER), motivo por el cual es considerado una descendencia menos productiva y en su momento fue rechazado como raza criolla. Sin embargo, el (PCH) reúne características productivas para las difíciles condiciones del chaco paraguayo, al igual que el (CNE) en zonas inundables y bajas. En este trabajo se analizaron las distancias genéticas entre las dos poblaciones bovinas criollas de Paraguay (PCH) y (CNE), además de la raza Hereford (HER), colectada en Paraguay. Fueron extraídos pelos de 95, 36 y 30 animales (PCH, CNE y HER) respectivamente, para análisis de ADN utilizando la técnica de PCR y un panel de 27 microsatélites. Para conocer el nivel de diferenciación genética fueron determinados los estadísticos  $F_{ST}$  por diferentes métodos, las distancias genéticas  $D_S$  y  $D_A$  de Nei, y la distancia de Reynolds, para posteriormente construir árboles de individuos a través del programa POPULATIONS 1.2.28. Fueron encontradas menores distancias en el contraste Pampa Chaqueño con Hereford y Pampa Chaqueño con Criollo Pilcomayo, respectivamente, aunque estas diferencias, son consideradas exiguas. La mayor distancia encontrada fue entre el Criollo Pilcomayo y la raza Hereford, registrándose siempre valores considerables.

## INTRODUCCIÓN

EL informe país de los recursos zoogenéticos del Paraguay, elaborado por una Comisión Nacional Consultiva (CNC) y moderada por consultores de la FAO, relató la existencia de cuatro poblaciones bovinas con características criolla, el Pampa Chaqueño, Criollo Pilcomayo, Criollo Ñeembucú y Criollo Arroyense (Paraguay, 2004). De acuerdo a la clasificación de la FAO sobre el estado de riesgo de las poblaciones animales, el Pampa Chaqueño se encuentra en Situación Amenazada-Mantenida. El Criollo Pilcomayo también se encontraría en este estado, aunque faltaría un censo más actualizado. Sobre el Criollo Ñeembucú, está en fase de colecta y caracterización, se encuentran ubicados en el departamento (estado/provincia) de Ñeembucú y la zona de los humedales del Parque Nacional Ypoá. El criollo Arroyense, se encuentra en etapa de identificación de los posiblemente últimos ejemplares en la zona del los Arroyos y Esteros del Departamento de Cordillera principalmente, en la zona mesopotámica de los ríos Maduvirá y Piribebuy, al igual que el Río Paraguay.

El Pampa Chaqueño habita en la Región Occidental (también conocida como Chaco), principalmente en la zona de transición entre el bajo chaco y chaco central. Aunque no cuenta con el reconocimiento o estatus de raza, tienen desde el año 1993 una Asociación de Criadores (APCPCH), un libro de registros y una central de pruebas de reproductores, ubicada en una Estancia o Ganadería, propiedad de un directivo de la Asociación. Este grupo genético, ha demostrado suficientemente su capacidad de resistir y adaptarse al especial clima chaqueño, mostrando también a lo largo de muchos años, importantes características de interés económico (Martínez López *et al.*, 2007).

Por otro lado, el Criollo Pilcomayo proviene de la zona comprendida por el litoral del Río Pilcomayo (frontera con Argentina) y el Estero Patiño, en la Región Occidental, desde bajo chaco a la zona de transición. Este ganado comenzó a ser colectado en la década del 70, gracias a la intervención de un criador de apellido Prayones. Actualmente, el principal rebaño se encuentra distribuido en dos propiedades privadas (del mencionado ganadero). Además, otros animales con características del Criollo Pilcomayo estarían diseminados igualmente en la citada región litoral del Río Pilcomayo.

En la actualidad, el Criollo Pilcomayo es destacado como un animal rústico para cría de engorde en áreas de condiciones edafológicas difíciles, convirtiéndose en una opción valedera para producción de carne en zona bajas del chaco y de regiones aledañas a los esteros y humedales de la Región Oriental del país. De la misma forma, el Pampa Chaqueño llamó la atención de técnicos y ganaderos de la zona debido a su rusticidad, fertilidad, precocidad y calidad de la canal (ANALES, 2002), criados en un medio climático difícil, como es el chaco paraguayo (Molinas & Moriya, 1998; Glatzle, 1999).

El Pampa Chaqueño exteriormente presenta semejanza con la raza Hereford, en relación al color y la distribución de éste en el cuerpo. En 1994, la comisión técnica de la Asociación Rural del Paraguay (órgano competente en el país para reconocer razas) rechazó la petición de la APCPCH, que luego de una evaluación visual concluyó: 1) Predominancia de genes aportados por el Hereford, 2) En terneros bien alimentados resurgen la calidad del Hereford y, 3) Terneros, productos de cruces entre Pampa Chaqueño con Cebú y Hereford con Cebú son iguales. Frente a esta situación, la APCPCH continuó trabajando con pruebas de peso en una central de prueba. Martínez-López (2005), destacó buenas características de pesos en toritos Pampa Chaqueño.

Para ambas poblaciones criollas, uno de los principales factores que impiden la consolidación regional y a nivel país, es la determinación de su status genético, ya que, por un lado, son considerados animales menos productivos y por otro, existen inconvenientes para su registro zootécnico oficial. En este sentido, la FAO (2004) recomendó trabajos de caracterización animal. Igualmente, Carvalho (2000), Sastre *et al.* (2003), Barrera *et al.* (2003), Martínez *et al.* (2003), Martínez *et al.* (2005) y Quiroz (2007), comprobaron la importancia de estudios sobre diversidad y caracterización genética de animales. Estos análisis sirven también como punto de partida a trabajos siguientes como ser estudios de relación genética con otras razas. Este trabajo llevó en consideración estos aspectos, por lo que tuvo el objetivo de conocer el grado de diferenciación y las distancias genéticas entre pares de poblaciones incluidas en este estudio, como son Pampa Chaqueño y del

Criollo Pilcomayo, utilizando marcadores microsatélites. Igualmente fueron introducidos, como población de referencia, bovinos de la raza inglesa Hereford colectados en el Paraguay.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Fueron utilizados tres poblaciones bovinas de Paraguay, criadas en la Región Occidental (Chaco); Pampa Chaqueño (PCH), Criollo Pilcomayo (CNE) y Hereford (HER), siendo 95, 36 y 30 animales respectivamente. El ganado Hereford utilizado provino de dos cabañas/ganaderías donde se producen animales puros de pedigrí de la raza. El Criollo Pilcomayo fue colectado de una estancia/ganadería y el Pampa Chaqueño de cuatro propiedades.

Se utilizaron pelos como material biológico y el ADN de las muestras se ha extraído mediante el Kit BLOODCLEAN de purificación de ADN (BIOTOOLS -Biotechnological & Medical Laboratories, S.A., España) siguiendo las indicaciones del fabricante. Se han estudiado 27 microsatélites, que son los siguientes: *BM1314*, *ILSTS6*, *TGLA53*, *ETH10*, *ETH225*, *MM12*, *CSSM66*, *TGLA122*, *CRSRM60*, *HEL13*, *INRA23*, *INRA63*, *HEL9*, *BM2113*, *TGLA227*, *INRA35*, *ETH3*, *HAUT24*, *ILSTS011*, *BM1824*, *ETH185*, *HAUT27*, *INRA32*, *INRA37*, *BM1818*, *BM8125*, *SPS115*. Los microsatélites mencionados se amplificaron mediante la técnica de la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR). Para realizar la separación por tamaños de los fragmentos obtenidos mediante la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR), se someten estos a una electroforesis en gel de poliacrilamida en un secuenciador automático ABI 377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). El análisis de los fragmentos y la tipificación alélica se ha realizado mediante los programas informáticos GENESCAN Analysis 3.1.2 y GENOTYPER 2.5 respectivamente.

Para conocer el nivel de diferenciación genética entre poblaciones fueron determinados los estadísticos FST a través de diferentes métodos, con el programa GENETIX versión 4.01 (Belkhir, 1999), utilizando un *bootstrapping* con intervalo de confianza de 95% (1000 repeticiones). El valor de *Theta* corresponde al FST según el método de (Weir & Cockerham, 1984). Posteriormente, es obtenido el valor de RH, que es una estimación de FST según (Robertson & Hill), con su respectivo ajuste o valor de FST corregido, expresado como *RH'*. También es determinado el número de migrantes (Nm), que es una estimación  $(1-FST/4*FST)$  del flujo genético entre pares de poblaciones comparadas (Wright, 1969). Finalmente son calculados, el logaritmo del Nm ( $\log/Nm$ ) entre pares de poblaciones y el valor de la distancia *D*, que fue estimado por la inversa de  $1 - FST$  ( $D = - \ln x 1 - FST$ ). Estos valores sirven como herramienta de auxilio, que ayudan a analizar mejor los niveles de diferenciación y distancias genéticas entre pares de poblaciones. En la parte principal del trabajo, fueron estimadas las distancias genéticas  $D_S$  (Nei, 1972) y  $D_A$  (Nei *et al.*, 1983) de Nei, como también la distancia de (Reynolds, 1983), para posteriormente construir árboles de individuales a través del programa POPULATIONS 1.2.28 (Olivier Langella, <http://www.cnrs-gif.fr/pge/bioinfo/populations/>).

Una vez calculadas las distancias, los árboles individuales se visualizaron para un mejor análisis con el programa TREEVIEW (Page, 1996). Estos árboles también son conocidos como Dendrogramas Individuales, que por proximidad de los animales analizados se agrupan formando clústeres respectivos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla I, son observados distintos valores de FST según diferentes métodos de estimación. El valor *Theta* corresponde al cálculo de FST de acuerdo a los métodos de Weir & Cockerham (1984) estimados por pares de poblaciones analizados. EL valor RH corresponde a la estimación ajustada de FST según Robertson & Hill. El número de migrantes (Nm) es una estimación  $(Nm = 1-FST/4*FST)$  del flujo y la dinámica genética entre pares de poblaciones comparadas (Wright, 1969). Valores igual a 999999,00 provienen de los estimados de *Theta*, cuando este es menor a 0. Igualmente, el cálculo del logaritmo de Nm ( $\log/Nm$ ) fue realizado entre pares de poblaciones. El valor de la distancia genética (*D*) fue estimado por la inversa de  $1-FST$  ( $D = - \ln x 1 - FST$ ).

Por las observaciones dadas de *Theta* y de RH se registraron medias de distancia moderada entre el Pampa Chaqueño (PCH) y el Hereford (HER), ampliándose esta distancia entre el Criollo Pilcomayo (CNE) y el HER. Estos datos contribuyen a dar consistencia en análisis posteriores de distancias y relaciones genéticas entre

poblaciones o razas. Por lo tanto, se observan distancias importantes entre las tres poblaciones bovinas analizadas. Aunque los valores de  $RH'$  son diferentes a las distancias encontradas por las estimaciones  $Theta$  y  $RH$ , en el sentido que la menor observada aquí fue entre el PCH y el CNE. De cualquier manera, aún este método mostró distancia importante entre las tres poblaciones.

**Tabla I.** Distancias entre las poblaciones Pampa Chaqueño (PCH), Criollo Pilcomayo (CNE) y Hereford (HER) de acuerdo a los métodos de Reynolds, (Weir & Cockerham) y (Robertson & Hill) (*Distances between populations Pampa Chaqueño (PCH), Criollo Pilcomayo (CNE) and Hereford (HER) according to the methods of Reynolds, (Weir & Cockerham) and (Robertson & Hill)*).

	Poblaciones	PCH	CNE	HER
$Theta$	PCH	0	0,04930	0,04875
	CNE		0	0,10184
	HER			0
RH	PCH	0	0,03220	0,02888
	CNE		0	0,06424
	HER			0
$RH'$	PCH	0	0,37967	0,29153
	CNE		0	0,37343
	HER			0
Nm	PCH	0	4,82	4,88
	CNE		0	2,20
	HER			0
Log (Nm)	PCH	0	0,68136	0,68826
	CNE		0	0,34340
	HER			0
D	PCH	0	0,05056	0,04998
	CNE		0	0,10740
	HER			0
FST/1-FST	PCH	0	0,05185	0,05125
	CNE		0	0,11338
	HER			0

Theta: Cálculo de FST, estimados por pares de poblaciones analizados; RH: Estimación ajustada de FST; con su respectivo ajuste o valor de FST corregido, expresado como  $RH'$ ; Nm: Número de migrantes, estimación del flujo genético entre pares de poblaciones comparadas; Logaritmo del Nm: (Log/Nm) entre pares de poblaciones y D: Distancia genética, estimado por la inversa de  $1 - FST$ .

El Número de migrantes (Nm) es otro indicador de diferenciación genética, que según Quiroz (2007) presenta correlaciones negativas con otras distancias calculadas. Los valores de Nm encontrados entre el PCH y HER (Nm = 4,88) fueron similares a los observados entre el PCH y CNE (Nm = 4,82) y bastante superiores a los registrados entre el CNE y HER (Nm = 2,20). Estos valores obtienen consistencia, cuando observamos los valores logarítmicos de Nm, entre las poblaciones estudiadas. Conforme las dos poblaciones estudiadas presentan mayor semejanza, mayor será el número de migrantes requeridos para modificar las frecuencias genéticas de las poblaciones. Por tanto, cuanto mayor sea el Nm, menor será la distancia genética. De la misma forma, estos resultados conciden con los valores  $D$  encontrados 0,05056; 0,04998 y 0,10740, para los pares PCH/CNE, PCH/HER y CNE/HER, respectivamente.

En la misma tabla I, se observan los valores del coeficiente de  $FST/1-FST$  entre PCH y HER (0,05125) fue apenas inferior al encontrado entre el PCH y CNE (0,05185), de igual manera como  $Theta$  registró el valor de 0,04875 entre las poblaciones de PCH y HER, frente al valor de 0,04930 entre PCH y CNE. Nuevamente, el mayor valor correspondió a  $Theta$  dado entre CNE y HER (0,10184). Por un lado, vemos concordancia entre todos los parámetros analizados, en cuanto al orden de mayor y menor distancia entre poblaciones, y, por otra

parte, estos resultados nos ayudan a presumir que la mayor distancia registrada se observó entre el CNE y HER, comparadas a las otras medidas registradas.

Los estadísticos F nos ayudan a conocer el perfil y la diversidad genética de las poblaciones y el grado de diferenciación existente entre ellas (Martínez-López, 2008). En el caso de “FST’s” observados aquí, la estimación a través de varios métodos, nos ayudan a interpretar el nivel de diferenciación genética existente entre poblaciones analizadas, en los términos de frecuencias alélicas. Los valores de FST varían desde 0 (donde toda la diversidad genética es compartida dentro de una especie y no hay diferencias genéticas entre las poblaciones) al valor de 1 (donde toda la diversidad genética dentro de una especie es encontrada como diferencias fijas entre poblaciones y sin diversidad genética dentro de cada población (Ginja, 2002; Magni, 2005; Quiroz, 2007; Martínez, 2008). Otros estudios realizados por Almeida (2014), observan diferenciaciones genéticas de Nei, independientes una de otras, para tres razas autóctonas portuguesas, Barrosã, Maronesa y Mirandesa (BAR, MAR y MIR respectivamente), arrojando los valores más altos entre MIR y BAR (0.477), MIR y MAR (0.466) en comparación a los valores más bajos que se dieron entre MAR y BAR (0.09), MAR y MIR (0,157), demostrando que los distintos valores de FST fueron significativos.

De forma general, se observa bastante consistencia en los valores FST obtenidos a través de diferentes métodos de estimación. Por tanto, con los valores encontrados entre las tres poblaciones bovinas de Paraguay incluidas en este trabajo, indican que existen diferencias genéticas entre moderadas y buenas. Cabe señalar que Nei, (1987) mencionó que el FST puede ser utilizado como una medida de distancia genética entre dos poblaciones estudiadas. Sin embargo, este parámetro no debería usarse como tal, ya que el FST se define para varias poblaciones y las estimaciones de distancias estiman este espacio entre pares de poblaciones. Por lo tanto, estas medidas de FST nos permitirán contribuir en un análisis más profundo junto a medidas verdaderas de distancias estimadas a seguir.

**Tabla II.** Distancias genéticas encontradas entre las poblaciones bovinas de Paraguay, Pampa Chaqueño, Criollo Pilcomayo y Hereford (*Genetic distances between three cattle populations studied of Paraguay, Pampa Chaqueño, Creole Pilcomayo and Hereford*).

		PCH	CNE	HER
Distancia $D_A$ de Nei	PCH	0	0.12199	0.140441
	CNE		0	0.281642
	HER			0
Distancia $D_S$ de Nei	PCH	0	0.206522	0.161493
	CNE		0	0.378716
	HER			0
Distancia Reynolds	PCH	0	0.0509538	0.0505905
	CNE		0	0.108078
	HER			0

PCH: Pampa Chaqueño; CNE: Criollo Pilcomayo y HER: Hereford.

En la tabla II observamos los valores obtenidos para las distancias genéticas determinados  $D_A$  y  $D_S$  de Nei y de Reynolds. Primeramente, a través del método  $D_A$ , la mayor distancia encontrada fue entre CNE y HER (0,281642), seguida de la distancia entre PCH y HER (0,140441), siendo finalmente la menor distancia registrada entre PCH y CNE (0,12199). Sin embargo, en las otras dos estimaciones de distancias, el orden de mayores y menores distancias presentó algunas variaciones. Para el método  $D_S$  de Nei, igualmente el espacio encontrado entre CNE y HER fue el mayor, mostrando valores muy elevados (0,378716). La menor distancia por este método fue el registrado entre PCH y HER (0.161493), siendo el valor intermedio el observado entre PCH y CNE (0,206522). Por tanto, la variante de orden entre  $D_A$  y  $D_S$  fue en el posicionamiento relacionada a la menor distancia, siendo para el primero PCH y CNE, y para el segundo PCH y HER respectivamente. Finalmente, atendiendo el método de Reynolds, el orden de las distancias fue similar al  $D_S$  de Nei, pero con un detalle; la diferencia dada entre la menor distancia encontrada (PCH y HER = 0.0505905) y la distancia

intermedia (PCH y CNE = 0.0509538) que es técnicamente igual, ya que difieren en menos de 0,7%. Como en todos los otros métodos, la mayor distancia fue entre CNE y HER (0.108078). Investigaciones como la de Fernández *et al.* (1998) registraron por el método de  $D_A$  de Nei, estudiando razas bovinas autóctonas de Galicia y Región Norte de Portugal, encontraron valores fluctuantes entre 0.0057 Arouquesa - Frieiresa y 0.0610 Maronesa - Mirandesa, pero valores más altos cuando la Moranesa era comparada con otras razas, 0.0610 con Moranesa - Mirandesa y 0.0215 con Moranesa - Cachena. Seguidamente Ginja (2002), por el método  $D_A$  de Nei, estudiando razas autóctonas portuguesas encontró distancias de 0,1135 entre las razas Alentejana y Barrosã; 0,0951 entre Alentejana y Mertolenga; 0,0808 entre las razas Arouquesa y Barrosã; 0,1025 entre Arouquesa y Galega; 0,0749 entre Arouquesa y Marinhoa, y; 0,096 entre las razas Arouquesa y Maronesa. Todas las citadas distancias  $D_A$  de Nei, fueron menor al 0,1404 encontrado entre el PCH y el HER y, el 0,122 encontrado entre el CNE y el PCH. Sin embargo, tanto PCH como CNE, no son poblaciones reconocidas como razas en el Paraguay. La misma autora también encontró a través del mismo método, una distancia igual a 0,1239 entre las razas Limousine y Charoláis, igualmente inferior al valor registrado por este método entre PCH y HER. Los estudios de Martínez *et al.* (2006), el  $D_A$  de Nei, para siete subpoblaciones de la raza bovina criolla colombiana Casanareño, y para un panel de 14 loci de microsatélites, observaron una menor medida de distancia genética entre las subpoblaciones, A (Albania) y HB (Mastranto), con un valor de 0,219 y entre las subpoblaciones C (Cumay) y BY (Bubuy) con 0,251; dentro de la raza CAS. Con respecto a la raza Cebú, utilizada como referencia, las poblaciones HB (Mastranto) y RC (Recreo) con 0,271; son las que presentaron las menores distancias, lo que sugiere que en esas poblaciones hay mayor proporción de individuos CAS que comparten alelos con Cebú, posiblemente debido a mestizaje. Estos autores también observaron que las razas criollas presentaron siempre valores altos de divergencia con relación a la raza Cebú, valores que varían entre 0,62 y 1,6. Pero cuando se analiza la matriz de distancias incluyendo solamente las subpoblaciones de raza Casanareño y la raza Cebú, se confirma el menor valor de distancia genética  $D_s$ , que existe entre la raza Cebú y la subpoblación RC (Recreo), y el más alejado con las subpoblaciones BY (Bubuy), C (Cumay) y JV (Canaguay), mostrando que son los núcleos de raza Casanareño, que presentan menor proporción de alelos compartidos con Cebú, posiblemente debido a su mayor pureza racial. Entre las subpoblaciones, las más cercanamente relacionadas son HB y RC (0,20), HB y A (0,24), y C y BY (0,247), las que podrían tener algún origen común, por lo que recomiendan revisar su genealogía.

Estudios realizados por Berjano *et al.* (2012) observaron una clara diferenciación genética entre las poblaciones de la raza Romosinuano y la raza Cebú, los valores más altos de distancia genética se encontraron entre las subpoblaciones BG, BO, FT y UT, la diferencia se da principalmente entre BR y FT, ( $D_A = 1,00$ ), así como en las poblaciones de BO y UT ( $D_A = 0,838$ ) este último, también presenta un alto valor de distancia genética con la población de BR (0,805), lo que indica que dichas poblaciones comparten pocos alelos y la frecuencia de los alelos compartidos entre ellas son muy diferentes por lo que están genéticamente distanciadas, esto podría ser posible en el caso del CNE/HER, por más de que estos valores reportados hayan sido inferiores a lo obtenido en el CNE/HER con un valor de (0,281642). Por otro lado, también observaron menores valores de distancia genética entre las poblaciones de EP y GS ( $D_A = 0,296$ ). Así mismo, la población de GS presentó valores de distancia muy bajos frente a toda la población ED ( $D_A = 0,16$ ), en cambio estos dos últimos valores se aproximan más a lo obtenido en este trabajo tanto para PCH/HER (0,140441) y PCH/CNE (0,12199) presentando menor distanciamiento para ambas poblaciones. Según los estudios de Mejía *et al.* (2015) para el bovino criollo del trópico alto de Nariño (Colombia), las distancias genéticas de Nei indicaron que la raza Criollo y la raza Holstein son las más cercanas genéticamente al presentar el menor valor de distancia (0,1282) y el mayor valor de identidad (0,8797), lo que podría sugerir un mayor indicio de introgresión de genes en estas dos razas, mientras que valores mayores de distancia (0,3233) y con la menor identidad (0,7238) fueron observados entre la raza Criolla y Normando.

Para los estudios de Aguirre *et al.* (2014), trabajando con 19 poblaciones bovinas: 13 taurinas europeas, 5 índicas y la población criolla de la RSE, es de destacar que los distanciamientos con las 18 poblaciones de bovinos, donde superan el 0,10. Las distancias menores se registraron entre RSE: Berrenda Colorada (0,1031), RSE: Pajuna (0,1132), RSE: Negra Andaluza (0,1302), RSE: Vaca Canaria (0,1326) y RSE: Frisona (0,1362);

el mayor distanciamiento se observa entre RSE: Guzera (0,4725) y RSE: Nelore (0,4624). Estos valores indican que los bovinos criollos de la RSE tienen un gran distanciamiento con las razas cebuinas, aparte que sus troncos ancestrales están en las poblaciones ibéricas traídas en la conquista de América.

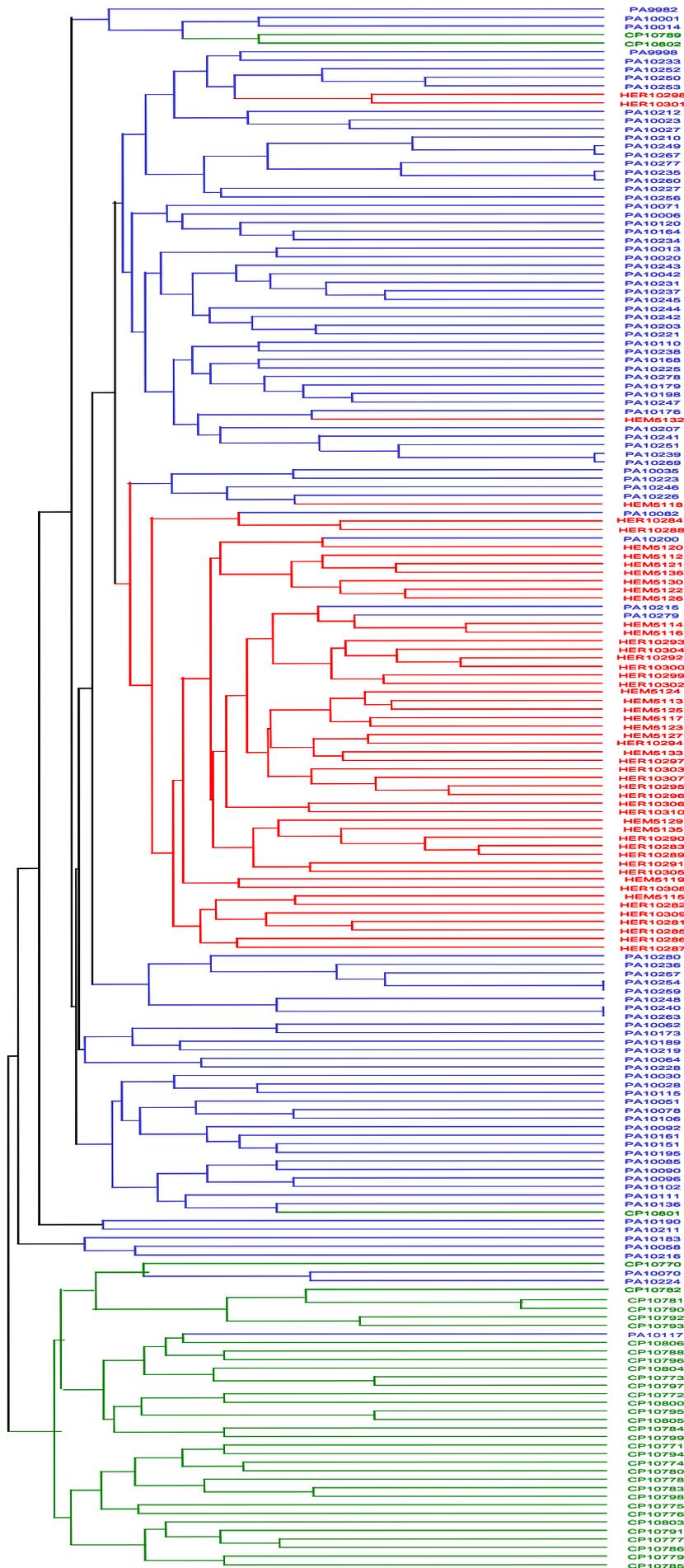
De acuerdo a Richard & Thorpe (2001), todos los métodos de distancias asumen que no hay migración en una población de tamaño constante. Igualmente afirmaron que estas medidas serían eficientes con poblaciones pequeñas y reducidos niveles de diferencias. Para el caso de las poblaciones criollas de Paraguay aquí estudiadas, es posible que recientemente haya existido baja migración o que en la actualidad no exista más este fenómeno, aunque la masiva introducción de razas exóticas contribuyó en la degradación de los recursos genéticos locales. Situación similar reportó Quiroz (2007) con los criollos mejicanos y Mejía *et al.* (2015), con criollos colombianos.

A través de los distintos métodos analizados, siempre hubo entre CNE y HER mayores distancias. De hecho, estas razas o poblaciones (en el caso del Criollo Pilcomayo), exteriormente presentan diferencias, no solo en su conformación y desarrollo, si no también, en el color y la distribución de este en el cuerpo. Aun teniendo en cuenta que el Criollo Pilcomayo presenta heterogeneidad en cuanto a coloración de capa y pelos. Por otro lado, según los métodos  $D_s$  de Nei y de Reynolds, e incluyendo cálculos de  $F_{st}$ , los menores valores fueron entre PCH y HER, aunque sin mucha diferencia cuando comparamos a la distancia registradas entre PCH y CNE. Evidentemente, el color y la distribución del mismo en el cuerpo marcan semejanzas entre PCH y HER. Esto indicaría posible influencia de la raza inglesa en la formación inicial del Pampa Chaqueño, varias décadas atrás, sin que esto haya sido comprobado. Sin embargo, es sabido que el color y su distribución en el cuerpo, es controlado por algunos genes, siendo estos en muchos casos dominantes, como el caso de la “cara blanca”. El genoma bovino está conformado por millones de genes y solamente, sustentado en estos parecidos, no hay razón para encuadrar al PCH y al HER, ni a otras poblaciones con semejanzas de colores externos, como genéticamente iguales. Si solo se tuviese este criterio para determinar igualdad o diferencia genética, muchos grupos genéticos y razas, deberían ser considerados similares. Solo a modo de ejemplo, el Nelore y el Brahman presentan coloración y conformación corporal externa semejante, pero son dos razas diferentes de reconocimiento internacional, al igual que las razas “sintéticas” Braford y el Brangus, comparados a sus “donantes” Hereford y Angus respectivamente.

En la línea de discusión, exteriormente el PCH y el CNE presentan también características similares de conformación y desarrollo. De hecho, observando fenotipos de bovinos criollos sudamericanos, se distinguen por una conformación y distribución corporal semejantes, aunque diferencias de colores son observados a menudo. Esto se haría extensivo en muchos casos, cuando observamos criollos de centro América, México, y regiones de África. Sin embargo, aún con semejanzas fenotípicas como resultado de la selección natural, pueden ser diferentes genéticamente (Bamshad *et al.*, 2004).

En la figura 1 se observa el árbol de distancias genéticas individuales o dendrograma, entre animales pertenecientes a las dos poblaciones bovinas criollas de Paraguay incluidas en el estudio, más los de la raza Hereford colectados en el país. Esta herramienta nos ayuda a consolidar lo que venimos viendo con los demás resultados, ya que presenta coherencia con los mismos y son bastantes ilustrativas. Estas separaciones o distancias observadas a través de los árboles individuales son suficientemente utilizadas en distintos análisis genéticos, como pueden ser programas de selección y cruzamientos, a fin de evitar endogamia en la población y explotar el vigor híbrido en sistemas productivos intensivos, como en trabajos de Machado *et al.* (2003).

El dendrograma mostró a todos los bovinos identificados como CNE como un agrupamiento separado de forma clara de otros grupos o clústeres formados. Así, el CNE estableció un grupo bastante distanciado del resto y con alto valor de bootstrap (0,9). Luego, son observados algunos ramos de PCH posicionados en el extremo superior de la figura y en la “frontera” con el clúster CNE. El agrupamiento del HER se ubica de modo definido y diferenciado en el centro del dendrograma, separado del clúster de PCH más próximo (el ubicado en la parte superior).



**Figura 1.** Dendrograma de distancias genéticas individuales entre las tres poblaciones bovinas estudiadas de Paraguay; Pampa Chaqueño, Criollo de Pilcomayo y Hereford (*Dendrogram of individual genetic distances of the three cattle populations studied from Paraguay; Pampa Chaqueño, Creole Pilcomayo and Hereford*).

**Referencias:**

- (95) Pampa Chaqueño ■
- (36) Criollo Pilcomayo ■
- (30) Hereford ■

De forma general las tres poblaciones colectadas en Paraguay, las dos criollas y el Hereford se sitúan claramente separadas, con la salvedad que el PCH formaría dos sub-agrupaciones aparentes, siempre recordando que este árbol nos brinda una visión bidimensional. También, algunos (cuatro) individuos PCH se observan mezclados en el clúster HER. Como exteriormente presentan semejanza, estos PCH pudieron haber sido colectados de un rebaño donde recientemente hubo procesos de absorción con la raza Hereford, práctica a veces realizada en la zona a objeto de “mejorar” la productividad y los rendimientos del PCH.

En estudios de Martínez (2008), con dos poblaciones de criollos argentinos (Patagónico y del Noroeste), fueron observadas formaciones más claras y definidas, comparados a los registrados en este trabajo. Pero debemos considerar que la separación geográfica dada entre estos criollos argentinos es superior a los 1500 Km. Este espacio no existe entre los lugares de cría del PCH y HER en la región Occidental o Chaco (aunque en el caso de la raza inglesa sea cabañas de reproductores y no establecimientos de producción). Inclusive, en el caso del CNE que característicamente habita una subregión del país más distante (litoral del pilcomayo y zonas bajas cercanas). En este sentido Bamshad *et al.* (2004) destacaron la importancia de las distancias geográficas, como un factor influyente en obtener mayor o menor diferenciación genética entre poblaciones. Como así también para los trabajos realizados por Cordero *et al.* (2015) donde mostraron un dendrograma de tres agrupaciones claramente diferenciadas, con las regiones (Central Metropolitana y Central Occidental) en un grupo, para ambos grupos existe una proximidad geográfica; (Huetar Caribe, Central Sur, Pacífico Central y Chorotega) en un segundo grupo, se encuentran en zonas bajas y cercanas a las costas; y (Huetar Norte y Brunca) en un tercer grupo intermedio, se encuentran en zonas relativamente extensas (extremo Norte y Sur-Este), posicionándose como una población de mayor diversidad racial, aparte de poseer el 30% de la población ganadera del país, también contribuyó que presentase una mayor diversidad genética. Las diferencias genéticas entre regiones de ganado bovino de Costa Rica se relacionaron con la proliferación diferenciada de tipos raciales en función de su adaptabilidad a las condiciones agroecológicas y a los sistemas de producción imperantes en cada región.

Según otros estudios como la de Mejía *et al.* (2015) observaron una distancia genética muy cercana entre la raza Criolla y la raza Holstein, mediante el análisis de agrupamiento dendrograma, distanciadas así de otros clústeres (Pardo Suizo, Jersey y Normando), concluyendo que podría deberse a la introducción de genes en una población a otra diferente, lo que podría estar pasando con el PCH al encontrarse combinados en el clúster de HER. De cualquier manera, esta “dispersión” observada en el dendrograma, en la población del PCH indicaría una buena variabilidad genética existente. Por otra parte, Pereira *et al.* (2015) basado en la distancia genética  $D_a$  de Nei, ha reportado que, en un solo clúster, se agruparon la población de Patiño (CEASiP), los biotipos Saavedreño y Yacumeño, mientras que el clúster del Criollo boliviano se diferenció claramente de los clústeres de las razas cebuínas (Gir, Brahman y Nelore) y taurinas europeas (Angus y Hereford). Por tanto, señalan que es factible intercambiar material genético entre las poblaciones Criollo bolivianas sin pérdida significativa de su diversidad genética e identidad.

Seguidamente los estudios de Ferrufino *et al.* (2016) determinaron la distancia genética de bovinos criollos de Pasorapeño Cochabamba, Bolivia, con relación a otras poblaciones de bovinos Criollos y con otras razas taurinas europeas y cebuínas, las poblaciones analizadas se dividieron inicialmente en dos grupos: cebuino (Gir, Brahman y Nelore) y taurino, diferenciándose con una mayor distancia de los Criollos de Pasorapa, luego este último clúster se dividió a su vez en dos grupos, uno que incluye las dos razas británicas (Angus y Hereford) y el otro a cuatro razas criollas (Pasorapa, Yacumeño, Patiño y Saavedro), a través de ello evidenciaron que la población de Criollos de los Valles queda fuera de estos dos clúster y la que presentó menor distancia con la de Pasorapa fue la población de bovinos Criollos Yacumeños, según los estudios de estos autores, se correlacionan perfectamente con lo obtenido en este trabajo, donde observamos que hay una amplia distancia genética entre las poblaciones del CNE/HER, y una menor distancia en las poblaciones de PCHE/CNE y una distancia intermedia entre el PCH/HER, destacando una vez más, como un factor influyente las distancias geográficas.

## CONCLUSIONES

A través de diferentes métodos han sido observadas, distancias genéticas importantes entre las tres poblaciones bovinas colectadas en el Paraguay, Pampa Chaqueño, Criollo Pilcomayo y Hereford. Las menores distancias encontradas fueron entre el par de poblaciones Pampa Chaqueño y Hereford y el par Pampa Chaqueño y Criollo Pilcomayo, respectivamente, habiendo escasa diferencia en los valores registrados entre ambos pares de poblaciones. La mayor distancia encontrada fue entre el Criollo Pilcomayo y la raza inglesa Hereford, siendo registrado siempre valores considerables. Las poblaciones genéticas criollas de Paraguay constituyen una riqueza importante y deben ser motivo de atención y nuevos estudios genéticos para impulsar programas de conservación y/o mejora, visualizando su trascendencia actual y futura para ambientes específicos del Paraguay.

## AGRADECIMIENTOS

A la Asociación Paraguaya de Criadores de Pampa Chaqueño, especialmente a sus directivos Ing. Miguel Serrati y Sr. Otto Niedhammer; al criador del ganado Criollo Pilcomayo Sr. Eduardo Prayones; al Programa de Pos Graduación en Zootecnia de la Universidad Federal Rural de Pernambuco, Brasil; al Laboratorio de Genética Aplicada de la Universidad de la Universidad de Córdoba, España, y al Grupo de Recursos Zoogenéticos del Paraguay, por las contribuciones hechas para la realización de este trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Almeida A. 2014. Estudo da diversidade genética por 93 marcadores moleculares das raças de bovinos autóctones: Mirandesa, Barroã e Maronesa. Dissertação apresentada, Mestrado em Tecnologias da Ciência Animal. *Instituto Politécnico Escola Superior Agrária de Bragança*.
- Aguirre L., Apolo A., Chalco L. & Martínez A. 2014. Caracterización genética de la población bovina criolla de la Región Sur del Ecuador y su relación genética con otras razas bovinas. *Animal Genetic Resources*, 54, 93–101
- Anales I. 2002. Asociación de Criadores del Pampa Chaqueño. *Asunción: Asociación Paraguaya de Criadores de Pampa Chaqueño*. 119 p.
- Bamshad M.J. & Olson S.E. 2003. Does race exist? *Scientific American* 289, 78-85.
- Bamshad M., Wooding S., Salisbury B.A. & Stephens C. 2004. Deconstructing the relationship between genetics and race. *Nature Reviews Genetics* 5, 598-609.
- Belkhir K. 1999. Genetix: Logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions. CNRS UPR 9060.
- Bejarano D., Pedraza A., Rocha J.F. & Martínez R. 2012. Variabilidad genética en subpoblaciones comerciales de la raza criolla colombiana Romosinuano. *Ciencia Y Tecnología Agropecuaria*, 13, 97-107.
- Barrera G., Martínez R. & Ariza F. 2003. Caracterización genética molecular del ganado criollo colombiano utilizando marcadores moleculares tipo microsatélite y secuencia de DNA mitocondrial. In: VI Congreso Iberoamericano de razas criollas y autóctonas y IV simposio Iberoamericano sobre conservación y utilización de recursos zoogenéticos. *Resúmenes de Ponencias y Comunicaciones*. s.p. Recife. Dic. 1-14.
- Carvalho I.M.B.S. 2000. Caracterização Genética de Raças Bovinas Autóctones Portuguesas. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada). Universidade do Porto. 136p.
- Cordero J.M., Vargas B., León B., Chacón I. & Martínez M. 2015. Diversidad genética en bovinos de ocho regiones en costa rica. *Agronomía Mesoamericana*. 26, 191-202.
- Fernández A. Viana J.L., Iglesias A. & Sánchez L. 1998. Genetic variability and phylogenetic relationships between ten native cattle breeds from galicia and the north of Portugal. *Archivos de Zootecnia* 47, 61-71.
- Ferrufino F.L., Barrientos M.A., Pereira J.A. & Loza A. 2016. Caracterización Fenotípica y Genotípica del ganado bovino criollo Pasorapeño Cochabamba, Bolivia. Info INIAF v.1 n.7
- Food And Agriculture Organization (FAO). 2004. Base de Datos Pampa Chaqueño. Disponible na Internet. <[http://dad.fao.org/cgi-dad/\\$cgi\\_das.dll/BreedEdit?1322,1,s,Simp](http://dad.fao.org/cgi-dad/$cgi_das.dll/BreedEdit?1322,1,s,Simp)> Acceso em: 14 de out. 2005.
- Ginja C. J. 2002. Identificação de raças bovinas portuguesas a través da utilização de marcadores moleculares. Tese de Mestrado. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal.

- Glatzle A. 1999. Compendio para el manejo de pasturas en el Chaco. Asunción: El Lector. 118p.
- Machado A.M., Schuster I., Martínez L.M. & Campos A.L. 2003. Diversidade genética de quatro raças bovinas utilizando marcadores moleculares. *Rev. Brás. Zootec.*, Viçosa. 32, 93-98.
- Magni C. R.D. 2005. Principios de genética de poblaciones: Introducción, conceptos básicos y herramientas de medición de la diversidad genética Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Santiago.
- Martínez A.M., Calderón J., Camacho E., Rico C., Vega-Pla J.L. & Delgado J.V. 2005. Caracterización genética de la raza bovina mostrenca con microsatélites. *Archivos de Zootecnia* 54, 357-361.
- Martínez-López O.R. 2008. Caracterização genética do gado bovino Pampa Chaqueño do Paraguai utilizando marcadores microssatélites. Tesis Doctoral. UFRPE-Recife. Brasil.
- Martínez-López, O.R., Barbosa S.B.P., Ribeiro M.N., Cruz G.R.B. & Oliveira J.C.V. 2007. Utilização de dois modelos não-lineares no estudo da curva de crescimento de tourinhos Pampa Chaqueño no Paraguai. *Archivos de Zootecnia*. 56,3-14.
- Martínez-López, O.R. 2005. Estudio da Curva de Crescimento de Touros Jovens "Pampa Chaqueño" no Paraguai, utilizando modelos Não-Lineares. Tese de Mestrado. UFRPE-Recife. Brasil.
- Martínez R.A., Barrera G.P. & Sastre H.J. 2006. Variabilidad y estado genético de siete subpoblaciones de la raza criolla colombiana Casanareño. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 7, 5-11.
- Martínez R.D. 2008. Caracterización genética y morfológica del bovino criollo argentino de origen patagónico. Tesis Doctoral. Universidad politécnica de Valencia. Departamento de ciencia animal. Valencia, España.
- Martínez R.D., Giovambattista G., Ripoli M.V., De Luca J.C. & Dulout F.N. 2003. Patagonian Argentine Creole cattle polymorphism: comparison with North-West populations of this breed. *Research in Veterinary Science* 74, 287-290.
- Mejía L.G., Hernández R.A., Rosero C.Y. & Solarte C.E. 2015. Análisis de la diversidad genética de ganado bovino lechero del Trópico Alto de Nariño mediante marcadores moleculares heterólogos de tipo microsatélite. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 62, 18-33.
- Molina L. & Moriya H. 1998. Sistemas de Producción agropecuario en el Chaco paraguayo. San Lorenzo: Proyecto de desarrollo sustentable del Chaco paraguayo.
- Nei M. 1972. Genetic distances between populations. *American Naturalist* 106, 283-292.
- Nei M., Tajima F. & Tatenó Y. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. *Journal of Molecular Evolution*. 19, 153-70.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York.
- Page R.D.M. 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*, 12, 357-358.
- Paraguay. 2004. Informe País sobre la situación de los recursos zoogenéticos del Paraguay. *Ministerio de Agricultura y Ganadería; Viceministerio de Ganadería*. Asunción, Paraguay.
- Pereira J.A.C., Giovambattista G., Peña S., Lirón J.P., Loza A.J., Posik D., Baudoin M. & Bomblat C. 2015. Análisis de linajes maternos y paternos de bovinos criollo del Centro de Ecología Aplicada Simón I. Patiño – Bolivia. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*. AICA 6, 474-484.
- Quiroz-V J. 2007. Caracterización genética de los bovinos criollos mexicanos y su relación con otras poblaciones bovinas. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, España.
- Reynolds J., Weir B.S. & Cockerham C. 1983. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics Society of America* 105, 767-779.
- Richard M. & Thorpe R.S. 2001. Can microsatellites be used to infer phylogenies? evidence from population affinities of the Western Canary Island lizard (*Gallotia galloti*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 20, 351-360.
- Sastre H.J., Rodero E., Rodero A., Azor P.J., Sepulveda N.B., Herrera M. & Molina A. 2003. Caracterización genética de la raza bovina colombiana criolla Casanare mediante análisis de microsatélites. In: VI Congreso Iberoamericano de razas criollas y autóctonas y IV simposio Iberoamericano sobre conservación y utilización de recursos zoogenéticos. *Resúmenes de Ponencias y Comunicaciones*. s.p. Recife, Dec. 1-14.
- Weir B.S. & Cockerham C. 1984. Estimating F-statistics for analysis of population structure. *Evolution*, 36, 1358-1370.
- Wright S. 1969. *The theory of gene frequencies II*. Ed. The University of Chicago press. 511p.