



Corpoica. Ciencia y Tecnología  
Agropecuaria

ISSN: 0122-8706

revista\_corpoica@corpoica.org.co

Corporación Colombiana de Investigación  
Agropecuaria  
Colombia

Barrera, Gloria Patricia; Martínez, Rodrigo Alfredo; Ariza, Manuel Fernando  
Identificación de ADN mitocondrial Bos taurus en poblaciones de ganado Cebú Brahman  
colombiano

Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, vol. 7, núm. 2, julio-diciembre, 2006, pp. 21

-24

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria  
Cundinamarca, Colombia

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=449945021003>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

**ARTÍCULO TÉCNICO**

Gloria Patricia Barrera<sup>1</sup>,  
Rodrigo Alfredo Martínez<sup>1</sup>  
y Manuel Fernando Ariza<sup>2</sup>

**ABSTRACT****Identification of mitochondrial DNA  
of *Bos taurus* origin in Colombian  
Zebu Brahman cattle**

The American continent was colonised in the XVI century by the Europeans who introduced the *Bos taurus* cattle. The introduction of *Bos indicus* cattle was done a few years later with cattle from India, mainly males. In order to study the participation of *Bos taurus* females in the origin of the Colombian Zebu cattle, a 374 bp mitochondrial DNA fragment was sequenced (D-Loop) in six animals belonging to Colombian Zebu Brahman breed and 20 individuals representative of five Colombian native breeds: six of Blanco Orejinegro (BON), five of Costeño Con Cuernos (CCC), three of Romosinuano (ROMO), four of Casanareño (CAS) and two of San Martinero (SM). As a reference to *Bos taurus*, two individuals of the Spanish Pirenaica breed were also sequenced for the same fragment. Comparison between sequences revealed that the Zebu Brahman cattle has mitochondrial DNA of *Bos taurus* origin and closer to the native breeds of Spanish origin. Although described as *Bos indicus*, it showed the lowest genetic divergence when compared with the consensus sequence of European *Bos taurus*. The genetic divergences of the Colombian native breeds compared with the European *Bos taurus* ranged between 0.005 and 0.014. This suggests the participation of *Bos taurus* matrilineages in the origin of the Colombian Zebu Brahman cattle.

**Key words:** Zebú, mitochondrial, DNA, phylogeny.

Recibido: septiembre 21 de 2006.

Aceptado: diciembre 4 de 2006.

1. Investigadores master asistente, grupo de Recursos Genéticos y Biotecnología Animal, Centro de Investigación Tibaitatá, CORPOICA. E-mails: gbarra@corpoica.org.co y rmartinez@corpoica.org.co

2. Docente - investigador, Departamento de Producción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

**Identificación de ADN mitocondrial *Bos taurus* en poblaciones de ganado Cebú Brahman colombiano****RESUMEN**

El continente americano fue colonizado en el siglo XVI por los europeos quienes introdujeron por primera vez el ganado bovino de origen *Bos taurus*. La introducción de ganado *Bos indicus* ocurrió muchos años después, con las primeras importaciones desde la India, las cuales incluyeron principalmente machos. Con el fin de estudiar la participación de hembras *Bos taurus* en el origen del ganado Cebú colombiano, se secuenció un fragmento del ADN mitocondrial de 374 pb (D-Loop) en seis animales de la raza Cebú Brahman colombiano y 20 individuos representativos de las cinco razas criollas colombianas: seis de Blanco Orejinegro (BON), cinco de Costeño con Cuernos (CCC), tres de Romosinuano (ROMO), cuatro de Casanareño (CAS) y dos de San Martinero (SM). Adicionalmente, para el mismo fragmento se secuenciaron dos individuos de la raza española Pirenaica, como referente *Bos taurus*. La comparación de las secuencias reveló que los animales de la raza Cebú Brahman colombiano analizados presentaron ADN mitocondrial de origen taurino con mayor cercanía respecto de las razas criollas de origen *Bos taurus* europeo que con relación a las secuencias consenso *Bos indicus*, frente a las que se hallaron mayores divergencias. Adicionalmente, las divergencias de las razas criollas colombianas con respecto al consenso *Bos taurus* europeo variaron entre 0,005 y 0,014, resultado que sugiere la participación de matrilineajes *Bos taurus* en el origen del Cebú Brahman colombiano.

**Palabras clave:** cebú, ADN mitocondrial, filogenia, razas criollas.

**INTRODUCCIÓN**

LA HISTORIA DEL GANADO BOVINO en América comienza 500 años atrás con los viajes de Cristóbal Colón; en ellos se introdujeron a República Dominicana y Haití los primeros animales de origen *Bos taurus* provenientes de la Península Ibérica, los cuales dieron origen a las hoy denominadas razas criollas. Posteriormente, a comienzos del siglo XIX, el ganado Cebú fue introducido al continente Americano mediante importaciones que incluyeron al menos 300 cabezas traídas desde India a Norteamérica, la mayoría de los cuales eran toros; por lo tanto, posiblemente hembras de origen *Bos taurus* supieron los requerimientos reproductivos de los animales fundadores de esta raza en América (Meirelles *et al.*, 1999).

La introducción de ganado *Bos indicus* a Colombia se remonta a principios del siglo XX. Los primeros animales fueron dos machos de las razas Nelore y Guzerat importados directamente de la India, los cuales fueron cruzados con distintos tipos de bovinos criollos presentes en el territorio. Las principales importaciones de la época se realizaron desde Texas, Estados Unidos, en 1936, en donde se

embarcaron 20 hembras y 20 machos de ganado cebú Brahman.

Los primeros estudios de filogenia en ganado bovino utilizando ADN mitocondrial demostraron el origen separado de los ancestros domésticos del ganado *Bos indicus* y *Bos taurus* (Loftus *et al.*, 1994); de esta manera todos los haplotipos de ADN mitocondrial hallados en las razas criollas suramericanas son de origen *Bos taurus* (Mirol *et al.*, 2003; Miretti *et al.*, 2002; Carvajal-Carmona, 2003). Las comparaciones de un fragmento corto del D-Loop de razas africanas mostraron que la diversidad mitocondrial taurina puede ser agrupada dentro de dos haplotipos principales, uno que representa razas taurinas africanas y otro que corresponde al consenso europeo (Bradley *et al.*, 1996).

Mediante el uso de patrones de restricción enzimática en el ADN mitocondrial Meirelles *et al.* (1999) demostraron la presencia de polimorfismos de origen *Bos taurus* en las razas Nellore, Gyr y Brahman de Brasil, donde el 100% de los individuos de la raza Brahman analizados presentaron exclusivamente ADNmt de origen taurino; ello indica que la participación de las razas *Bos indicus* en la formación del cebú americano tuvo

lugar completamente a través de genes paternos. Hallazgos similares se encontraron en la raza Brahman de Bolivia (Mirol *et al.*, 2003).

Con el fin de estudiar la participación de hembras *Bos taurus* en el origen del ganado cebú colombiano, se secuenció un fragmento de 374 pb de la región hipervariable del *D-Loop* procedente de animales de la raza Cebú Brahman y de cinco razas criollas colombianas.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

##### Población

Se analizaron muestras de 28 animales procedentes en los centros de investigación de CORPOICA. La muestra incluyó seis individuos de la raza Cebú Brahman seleccionados de un núcleo comercial de la E.E. El Nus y 20 representantes de cinco razas criollas colombianas pertenecientes a los bancos de conservación de germoplasma, así: seis de Blanco Orejinegro (BON), cinco de Costeño con Cuernos (CCC), tres de Romosinuano (ROMO), cuatro de Casanareño (CAS) y dos de San Martinero (SM). Adicionalmente, se analizaron dos individuos de la raza española Pirenaica como control *Bos taurus*.

La extracción del ADN, se desarrolló a partir de sangre periférica colectada en tubos con anticoagulante. El protocolo de extracción de ADN se desarrolló de acuerdo con los protocolos estándar (Sambrook, Fritsch y Maniatis 1989) utilizando digestión con Proteinasa K (ICN Cat. 193504) y extracción con fenol: cloroformo: isoamil alcohol 25:24:1 (SIGMA P2069).

##### Amplificación y secuenciación

A partir de la secuencia de ADN mitocondrial bovino (ADNmt) reportada en el GEN BANK (accesión JO1394), se diseñó una pareja de cebadores (5'-GCC-CATACACAGACCACAGAAT-3') y (5'-GATGAGATGGCCCTGAAGAA- 3') a partir de la región hipervariable del *D-Loop* del ADN mitocondrial para amplificar un fragmento de 374 pb mediante PCR. En cada reacción se utilizaron 50 ng de ADN genómico bovino, 0,5 μM de cada cebador, 200 μM de dNTPs , 2,0 mM de MgCl<sub>2</sub> y 2U Taq polimerasa. La PCR se llevó a cabo en un termociclador PTC 100® (MJ Research, Inc.) programado para ini-

ciar con una denaturación a 95°C por 3 min y 30 ciclos así: denaturación a 95°C por 30 seg, anillaje a 58°C por 1 min, extensión a 72°C por 1 min y 30 seg.

El producto amplificado se confirmó en gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio a una concentración de 0,5 μg/mL. El producto de PCR fué purificado mediante Rapid Gel Extraction System® (Concert, Gibco BRLG, 11456) y fue clonado en el vector pGem T-Easy (PROMEGA®) para transformar la cepa de *E. coli* DH-5α. Para la secuenciación se utilizó el Kit de secuenciación de ADN Big Dye Terminator Cycle Sequencing® (Abi Prism®, Applied Biosystems). Se utilizaron 6 μl de muestra, 1 μl de iniciador T7 ó M13 para cada reacción directa o reversa, y 4 μl de BigDye. Las muestras se resolvieron en un secuenciador automático (Abi Prism 310® de Perkin Elmer).

Para la edición y alineación de las secuencias se utilizaron los programas ClustalW (Thompson *et al.*, 1994) y GeneDoc (Nicholas *et al.*, 1997). Las secuencias obtenidas en este trabajo se alinearon con secuencias *Bos taurus* de razas suramericanas (Brasil y Argentina), *Bos indicus* y *Bubalis* (bufalinas) identificadas con los números de acceso AF517787-AF517828, L277361 y BBU12946 del GEN BANK, respectivamente. Las distancias genéticas se estimaron utilizando el modelo de distancia Kimura 2 (1980) del programa MEGA version 2.1 (Kumar *et al.*, 2001).

#### RESULTADOS

El alineamiento de las secuencias pertenecientes a la raza Cebú Brahman con la secuencia consenso europea de *Bos taurus* mostró 11 sitios polimórficos, mientras que el alineamiento de las secuencias de las cinco razas criollas colombianas mostró 47 sitios polimórficos respecto de la misma secuencia de consenso.

Utilizando el modelo de distancia Kimura 2 (1980) del programa MEGA version 2.1 se estimaron las distancias genéticas, las cuales incluyeron las secuencias mencionadas del GEN BANK (Tabla 1).

Las distancias entre la raza hindú Tharpaliar (*Bos indicus*) respecto de las razas criollas colombianas, argentinas y brasileras (*Bos taurus*), fueron las de

mayor magnitud, lo cual separa claramente los linajes *Bos taurus* y *Bos indicus*.

Las distancias estimadas muestran que la raza Cebú Brahman colombiana (*Bos indicus*) presenta mayor cercanía con las razas criollas de origen *Bos taurus* que con la raza de origen *Bos indicus* del GEN BANK. Así, las distancias del Cebú Brahman se presentaron entre 0,010 y 0,020 con respecto a las cinco razas criollas, siendo más cercana a la raza Costeño con Cuernos y más distante con las razas Romosinuano y Casanareño, con divergencias de 0,016 y 0,020, respectivamente. La distancia entre los animales Cebú Brahman y la raza hindú Tharpaliar fue equivalente en magnitud a la que presentaron las razas criollas (0,090).

Las divergencias de las razas criollas colombianas con respecto al consenso *Bos taurus* europeo variaron entre 0,005 y 0,014, siendo las razas CCC, BON y SM las que presentaron las menores diferencias. Adicionalmente, entre ellas los valores de divergencia van desde 0,012 hasta 0,023. Las más cercanas fueron BON y CCC, seguidas por CCC y SM con divergencia de 0,013 entre ellas. Las distancias más grandes se observaron en la raza CAS con respecto a las demás razas criollas, con la mayor divergencia respecto de la raza ROMO. La divergencia entre la raza española Pirenaica y las razas criollas colombianas varío entre 0,043 y 0,053, presentando el menor valor con respecto a la raza CCC, y el mayor con respecto a la raza CAS.

Para la construcción del árbol filogenético se utilizó el método de máxima parsimonia con bootstrap de 100 réplicas en el programa PAUP 4.0 (Swofford, 2002) (Figura 1). La topología del árbol asume como unidad taxonómica a cada individuo y muestra a las razas criollas colombianas dentro del grupo de los haplotipos *Bos taurus* europeos junto con individuos de las razas Argentino, Caracú, Mochonal, Pantaneiro y Curraleiro. Se observa gran mestizaje dentro de las razas criollas, tanto colombianas como suramericanas, sin mostrar una estructura dentro de razas. Los animales de la raza Cebú Brahman analizados presentan haplotipos netamente *Bos taurus* del consenso europeo y en el árbol se observa junto con las razas criollas suramericanas. El *Bos indicus* hindú (Tharpaliar) y la secuencia de

**Tabla 1.** Matriz de distancias genéticas utilizando la medida de substitución de nucleótidos de Kimura (1980) del programa MEGA version 2.1 (Kumar *et al.* 2001).

	<i>Bos taurus europeo</i>	<i>Cebú Brahman colombiano</i>	BON	CAS	CCC	ROM	SM	PIRE	ARGt	CARA	CURR	MOCH	PANT	INDI	BUF
Bos taurus europeo	0.000														
Cebú Brahman colombiano	0.005	0.000													
BON	0.007	0.011	0.000												
CAS	0.014	0.020	0.021	0.000											
CCC	0.005	0.010	0.012	0.019	0.000										
ROMO	0.011	0.016	0.017	0.023	0.016	0.000									
SM	0.007	0.013	0.015	0.020	0.013	0.019	0.000								
PIR	0.038	0.043	0.045	0.053	0.043	0.047	0.046	0.000							
ARG	0.007	0.012	0.011	0.021	0.012	0.017	0.015	0.045	0.000						
CARACU	0.008	0.013	0.012	0.022	0.013	0.018	0.016	0.046	0.012	0.000					
CURRALEIRO	0.006	0.011	0.011	0.020	0.011	0.016	0.014	0.043	0.010	0.013	0.000				
MOCHONAL	0.009	0.013	0.013	0.023	0.014	0.019	0.017	0.047	0.013	0.012	0.013	0.000			
PANTANEIRO	0.021	0.024	0.020	0.035	0.025	0.028	0.029	0.057	0.019	0.013	0.024	0.016	0.000		
INDI	0.087	0.090	0.090	0.100	0.089	0.095	0.096	0.117	0.090	0.090	0.087	0.089	0.091	0.000	
BUF	0.114	0.117	0.113	0.126	0.117	0.120	0.120	0.149	0.116	0.117	0.114	0.116	0.118	0.126	0.000

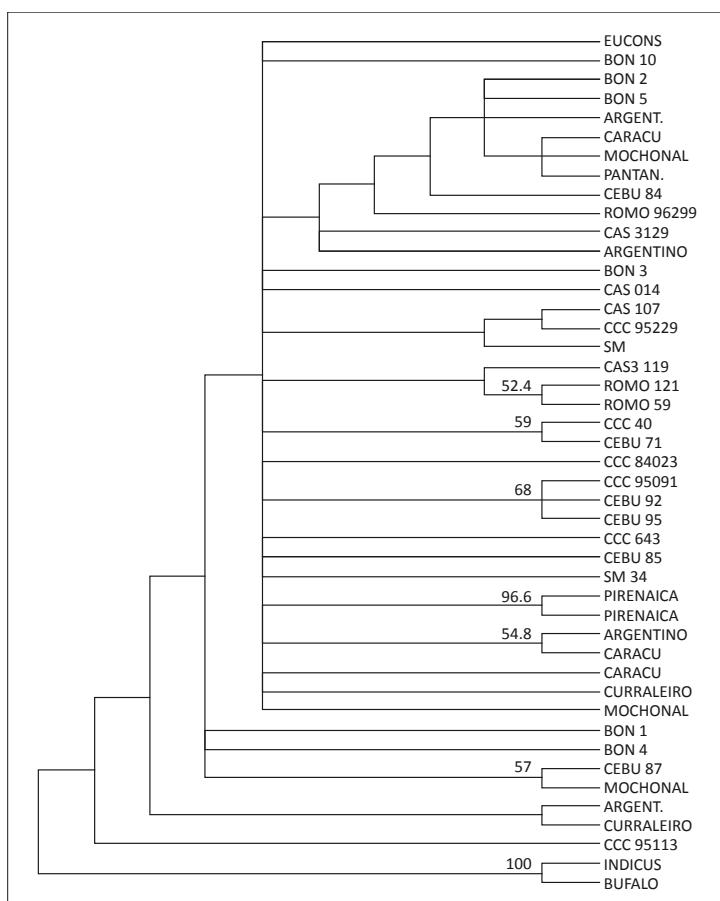
BON: Blanco Orejinegro; CAS: Casanareño; CCC: Costeño con Cuernos; ROMO: Romosinuano; SM: Sanmartinero; PIR: raza Pirenaica europea; ARG: raza autóctona *Bos taurus* argentino; CARACU, CURRALEIRO, MOCHONAL y PANTANEIRO son razas criollas brasileras; INDI: raza Tharpaliar *Bos indicus* de referencia; BUF: Búfalo.

búfalo se encuentran claramente separadas del linaje *Bos taurus*.

## DISCUSIÓN

Las razas de ganado doméstico actualmente se clasifican en dos grandes grupos: ganado sin joroba (*Bos taurus*) y ganado jorobado (*Bos indicus*). Los primeros estudios de filogenia en ganado bovino utilizando ADN mitocondrial los realizaron Loftus *et al.* (1994), donde examinaron seis razas europeas (taurinas), tres hindúes (Cebú) y cuatro africanas (tres Cebú y una taurina) e identificaron dos grupos, los cuales son representativos de las líneas ancestrales de *Bos indicus* (Cebú) y *Bos taurus* (taurino). Estos análisis muestran gran influencia de la herencia materna debido a que las mitocondrias espermáticas se pierden en la embriogénesis temprana (Manfredi *et al.*, 1997).

Los resultados del presente trabajo dilucidan el origen materno de individuos de las razas Cebú Brahman colombiano, de cinco razas criollas colombianas y una raza española. Indican que los animales de la raza Cebú Brahman presentaron ADNmt taurino, a pesar de que es una raza descrita como *Bos*



**Figura 1.** Árbol de relaciones filogenéticas entre la raza Cebú Brahman colombiana, razas de ganado criollo colombiano, y otras razas (Tharpaliar, autóctonas de Brasil y Argentina), mediante secuencia de ADNmt utilizando el método de máxima parsimonia.

*indicus*, lo cual tendría explicación por la introducción del cebú en América a comienzos del siglo XIX y su posterior cruzamiento con hembras *Bos taurus*. Los resultados de este trabajo concuerdan con el presentado por Meirelles *et al.* (1999), en el cual 23 animales de la raza Brahman presentaron exclusivamente ADNmt de origen taurino, lo que señala una influencia importante de razas *Bos taurus* en la conformación de esta raza. Hallazgos similares se encontraron en la raza Brahman de Bolivia (Mirol *et al.*, 2003). Gran proporción de los matrilineajes cebú americanos son derivados del entrecruzamiento con hembras nativas de origen *Bos taurus* y toros importados de India con genotipos mitocondriales *Bos indicus* (Meirelles *et al.*, 1999).

En Colombia, la Asociación Cebú ha establecido diferentes categorías para el registro de animales: Puro de Origen Importado, Puro de Origen Colombiano y Cebú Colombiano Clasificado. Es importante realizar la labor de análisis de los genotipos mitocondriales de individuos de estas categorías para poder establecer la presencia de matrilineajes *taurus* en ellas.

Las razas cebú americanas son fuente para investigaciones acerca de la participación del genoma citoplasmático en características de producción, ya que incluyen animales con diversos genotipos de ADN mitocondrial, pero con genes nucleares similares (Meirelles *et al.*, 1999).

Las razas criollas colombianas reportadas en este estudio, así como las razas criollas de Brazil y Argentina reportadas en el GEN BANK, presentaron haplotipos *Bos taurus* y se encontraron distantes del *Bos indicus*. No se observó ADNmt con origen *Bos indicus*, lo cual demuestra que a este nivel no se presenta introgresión de ADNmt *Bos indicus* en las razas criollas colombianas. Adicionalmente, éstas presentan principalmente haplotipos del consenso *Bos taurus* europeo, lo cual concuerda con los reportes acerca de que el bovino criollo americano desciende directamente de los animales traídos por Cristóbal Colón en su segundo viaje (Rouse, 1977).

Estudios en otras razas suramericanas, encaminados a determinar la contribución del ganado europeo y africano en la formación de las razas criollas, repor-

tan animales de la raza criolla Argentina y animales de las razas Curraleiro, Pantaneiro y Caracú de Brasil como portadores de haplotipos de *Bos taurus* europeo, como resultado de la introducción de los bovinos españoles a América (Miretti *et al.*, 2002; Mirol *et al.*, 2003).

El ADNmt no presenta evidencia de estructura para las razas criollas colombianas, lo cual se observa por el hecho que individuos de razas diferentes no se agrupan en *clusters* únicos. Una topología similar se observa con las razas suramericanas. Este resultado puede deberse al origen común de estas razas. Una de las hipótesis sostiene que cada raza es un conjunto de animales producto de una mezcla indiscriminada de algunas de las ocho razas importadas de España durante la conquista de América (Pinzón, 1984). Las distancias observadas entre la raza española Pirenaica y las razas criollas suramericanas, podrían sugerir que los ascendientes para esta raza no tuvieron mayor influencia durante la conquista española para la formación de las razas criollas. Rouse (1977) indica que algunas razas españolas actuales podrían ser descendientes de los mismos planteles de los cuales provienen los criollos; este es el caso de las razas Retinta, Berrenda, Cacereña y Andaluza negra.

## CONCLUSIONES

El análisis de las secuencias de un fragmento de ADN mitocondrial del *D-Loop* mostró gran diversidad en las razas criollas colombianas, similar a otras razas suramericanas, con haplotipos de ADN *Bos taurus* de origen europeo y con amplios valores de divergencia respecto al *Bos indicus*. Por el contrario, los individuos de la raza Cebú Brahman colombiano analizados presentan haplotipos *Bos taurus*, lo que indica que la participación de las razas *Bos indicus* en la formación de los animales del presente estudio fue a través de genes paternos.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Bradley D.G., D.E. MacHugh, P. Cunningham, R.T. Loftus. 1996. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. Proc. Natl. Acad. Sci. 93(10): 5131-5135.
- Carvajal-Carmona L., N. Bermúdez, L. Estrada, J. Ossa, G. Bedoya, A. Ruiz. 2003. Abundant mtADN diversity and ancestral admixture in Colombian criollo cattle (*Bos taurus*). Genetics 165:1457-1463.
- Kumar, S., K. Tamura and M. Nei. 1994. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software for microcomputers. Comput. Appl. Biosci. 10: 189-191.
- Loftus, R.T.; D.E. Machugh, D.G. Bradley, P.M. Sharp y P. Cunningham. 1994. Evidence for two independent domestications of cattle. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 2757-2761.
- Manfredi, G., D. Thyagarajan, L.C. Papadopoulou, F. Palloti y E.A. Schon. 1997. The fate of human sperm-derived mtADN in somatic cells. Am. J. Hum. Gen. 61: 953-960.
- Meirelles, F.V., A.J. Rosa, R.B. Lobo, J.M. García, L.C. Smith y A.M. Duarte. 1999. Is the american Zebu really *Bos indicus*? Gen. Mol. Biol. 22: 543-546.
- Miretti, M.M., H.A. Pereira, M.A. Poli, E.P. Contel y J.A. Ferro. 2002. African-derived mitochondria in South American native cattle breeds (*Bos taurus*): evidence of a new taurine mitochondrial lineage. J. Hered. 93: 323-330.
- Mirol, P.M., J.P. Giovambattista, J.P. Liron y F.N. Dulout. 2003. African and European mitochondrial haplotypes in South American Creole cattle. Heredity 91: 248-254.
- Nicholas, K.B., H.B. Jr. Nicholas y D.W. II Deerfield. 1997. GeneDoc (Version 2.6.002): Analysis and visualization of genetic variation. EMBNEWNEWS, EBI Newsletter 4:14.
- Pinzón, E. 1984. Historia de la ganadería bovina en Colombia. Suplemento Ganadero 4: 208.
- Rouse, J.F. 1977. The Criollo: spanish cattle in the Americas. University of Oklahoma Press, Norman, p. 303.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch y T. Maniatis. 1989. Molecular cloning: A laboratory manual. 2nd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 917 p.
- Swofford, D.L. 2002. PAUP\*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\* and other methods), version 4 (Sinauer, Sunderland, MA, 1998).
- Thompson, J.D., D.G. Higgins, y T.J. Gibson. 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 22: 4673-4680.