

PERFIL GENÉTICO DE DOS POBLACIONES BOVINAS CRIOLLAS DE PARAGUAY

GENETIC PROFILE OF TWO PARAGUAYAN CREOLE CATTLE

Martínez-López O.R.^{1,2*}, Barbosa S.B.P.², Martínez A.M.³, Delgado J.V.³, Landi V.³

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

²PDIZ - Departamento de Zootecnia. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil.

³Departamento de Genética. Universidad de Córdoba, España.

Keywords: Creole Pampa Chaqueño; Creole Pilcomayo; Bovine Autochthones; Microsatellite.

Palabras clave: Criollo Pampa Chaqueño; Criollo Pilcomayo; Bovinos autóctonos; Microsatélites.

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 presents a coloration and distribution in the body, similar to the Hereford breed (HER), which is 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 two Creole bovine populations of Paraguay, PCH and CNE were analyzed and a third population, the HER, collected in Paraguay, as a reference. 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. Analyzes of the fragments and allelic typing have been carried out, in order to know the genetic profile and the diversity of the Creole bovine populations of Paraguay. The number of alleles per population, allelic frequencies, expected and observed heterozygosities, the Hardy-Weinberg equilibrium test, and the Polymorphic Information Content have also been calculated. To know the level of genetic differentiation between populations, the FIS, FIT and FST statistics were determined. The Creole bovine populations of Paraguay presented clearly differentiated profile and genetic diversity, constituting them in a bovine genetic patrimony of the country.

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 dos poblaciones bovinas criollas de Paraguay, PCH y CNE y una tercera población, el HER, colectada en Paraguay, como referencia. 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. Se han realizado análisis de los fragmentos y tipificación alélica, con el objeto de conocer el perfil genético y la diversidad de las poblaciones bovinas criollas del Paraguay. También se han calculado el número de alelos por población, frecuencias alélicas, heterocigosidades esperadas y observadas, la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg, y el Contenido de Información Polimórfica. Para conocer el nivel de diferenciación genética entre poblaciones, fueron determinados los estadísticos FIS, FIT y FST. Las poblaciones bovinas criollas de Paraguay presentaron perfil y diversidad genética claramente diferenciada, constituyéndolos así, en un patrimonio genético bovino del país.

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 criollas; el Pampa Chaqueño, Criollo Pilcomayo, Criollo Ñeembucú y Criollo Arroyense (Paraguay, 2004). De acuerdo con 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 de 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, donde está en una Estancia o Ganadería, propiedad de uno de los directivos 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). EL mapa de referencia y los lugares de muestreo de las tres poblaciones bovinas utilizadas en este estudio pueden visualizarse en la Figura 1.

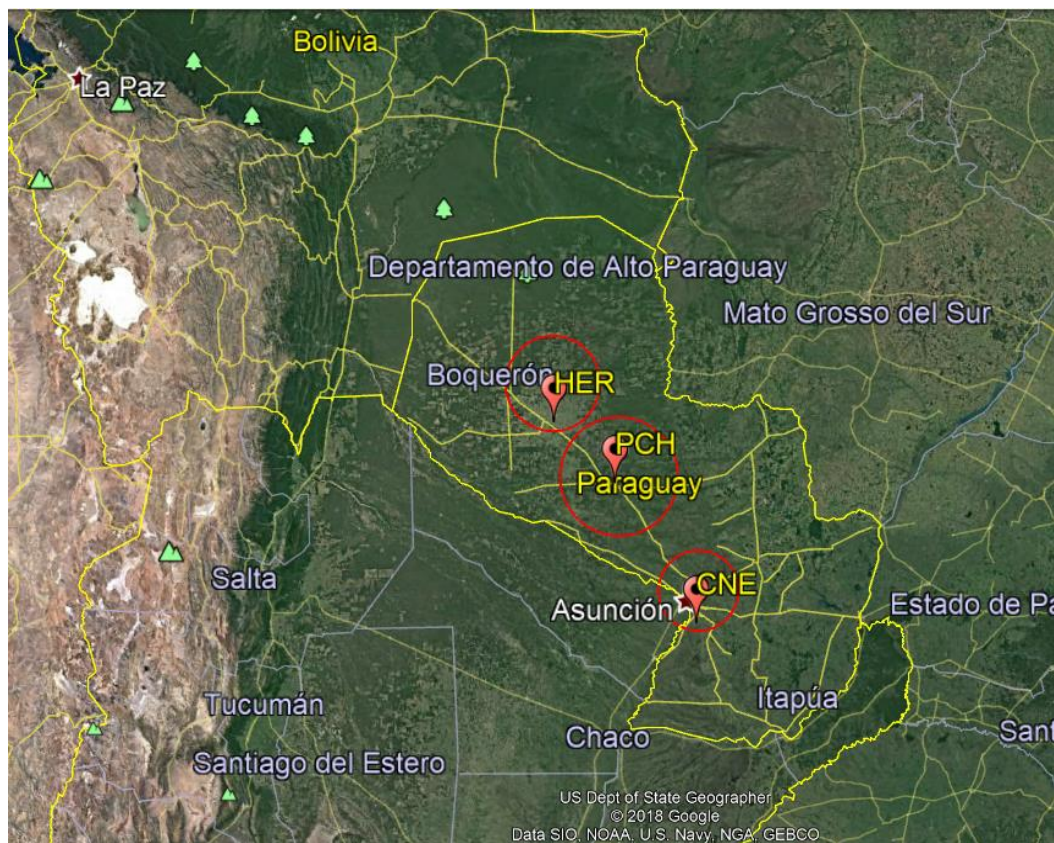


Figura 1. Mapa ilustrativo de la localización de los núcleos de conservación de: Pampa Chaqueño (PCH) y Hereford (HER), ambos localizados en la Región Occidental, principalmente en la zona de transición entre el bajo chaco y chaco central; y la zona de Loma Plata, respectivamente. El Criollo Pilcomayo (CNE), localizado en la Región Oriental, en el Departamento Central de la zona de Nueva Italia (*Illustrative map of the location of the conservation nuclei of: Pampa Chaqueño (PCH) and Hereford (HER), both located in the Western Region, mainly in the transition zone between the lower chaco and central chaco; and the Loma Plata area, respectively. The Creole Pilcomayo (CNE), located in the Eastern Region, in the Central Department of the New Italy area).*

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 el 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 (Eduardo). 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 y engorde en áreas de condiciones edafológicas difíciles, convirtiéndose en una opción valedera para producción de carne en zonas 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 este 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.

Uno de los principales factores que impiden la consolidación regional y a nivel país, de ambas poblaciones bovinas paraguayas es la determinación de su status genético, ya que, por un lado, son considerados como 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 estudios de relación genética con otras razas. Este trabajo llevó en consideración estos aspectos, por lo que tuvo el objetivo de conocer el perfil genético del Pampa Chaqueño y del Criollo Pilcomayo, utilizando marcadores microsatélites. Igualmente, es incluido en este trabajo 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 locus de 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. Con el objeto de conocer el perfil genético y la diversidad de las poblaciones bovinas criollas del Paraguay, se han calculado: el número de alelos por población y sus desvíos, las frecuencias alélicas, las heterocigosidades esperadas y

observadas mediante el programa informático GENETIX versión 4.01 (Belkhir, 1999). Se ha realizado la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg según el algoritmo de (Guo & Thompson, 1992) a través del programa informático GENEPOP versión 3.1c (Raymond & Rousset, 1995). Se ha estimado el Contenido de Información Polimórfica (PIC). Para conocer el nivel de diferenciación genética entre poblaciones, fueron determinados los estadísticos F, o sea, el FIS, que indica la consanguinidad o pérdida de heterocigosidad dentro de la población; el FIT, que indica la pérdida global de la heterocigosidad; y el FST, que indica el grado de diferenciación genética entre poblaciones. Esto fue estimado por el método de Jakknife, con el programa GENETIX versión 4.01 (Belkhir, 1999), utilizando un *bootstrapping* con intervalo de confianza de 95% (1000 repeticiones).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los niveles de variación genética dentro y entre las poblaciones que forman a las razas y especies, explica sus patrones en términos de fuerzas evolutivas, además la estructura genética está dada por las diferencias en las frecuencias alélicas de las subpoblaciones que lo conforman, las frecuencias para un gen se pueden ver afectadas por diferentes fuerzas evolutivas como lo son mutación, deriva genética y selección natural, las cuales pueden aumentar la diferenciación genética de las poblaciones. Y lo que es el flujo genético o la migración están encargadas de mantener la homogeneidad genética entre las poblaciones (Eguiarte *et al.*, 2013).

El número medio de alelos por loci en la población paraguaya fue de 8,85 para el PCH, siendo la más alta entre las tres poblaciones estudiadas (tabla I). El Criollo Pilcomayo presentó 7,85 y el Hereford 4,96. Es importante recalcar que las muestras de Pampa Chaqueño se extrajeron de cuatro establecimientos, Hereford de dos establecimientos y las de Criollo Pilcomayo de uno solo. Entre las tres poblaciones, se podría considerar al Criollo Pilcomayo como la más descuidada y en situación de riesgo. Según el estudio de Carvalho (2000) verificó que en una población con tamaño efectivo reducido presentaría menor número alelos, y casi siempre, valores de heterocigosidad más bajos. Anteriormente Cornuet & Luikart (1996) ya habían mencionado que una población que sufrió reducción importante en su tamaño efectivo desarrolla, generalmente, exceso de individuos homocigotos, lo cual persiste durante un cierto número de generación hasta que un nuevo equilibrio sea establecido. Sin embargo, el Criollo Pilcomayo presentó valores altos de número de alelos, siendo apenas superado por el Pampa Chaqueño y a los valores medios encontrados por Carvalho (2000) en razas autóctonas portuguesas. Según Quiroz (2007), el alto número de alelos encontrados en una población podría deberse a dos situaciones: Una gran variación genética en las poblaciones ancestrales que dieron origen a los animales analizados aquí, o la migración de otras razas existentes ocurrida en épocas más recientes. En el caso del Criollo Pilcomayo y del Pampa Chaqueño, ambas posibilidades son factibles. El número medio total de alelos en las tres poblaciones fue de 7, 22; siendo superior a lo registrado por Pereira *et al.* (2017) con un valor de 5,18 en ganado Criollo de los Valles de Santa Cruz, Bolivia. Todos los *loci* fueron polimórficos en las tres poblaciones bovinas del Paraguay y en el valor medio del número de alelos se ubicó próximo a los valores obtenidos por Quiroz (2007) en criollos mexicanos y a los de Grzybowski & Prusak (2004) en bovinos de Polonia.

Tabla I. Heterocigosidades esperadas y observadas, y número promedio de alelos de las poblaciones de Pampa Chaqueño (PCH), Criollo Pilcomayo (CNE) y Hereford (HER) (*Heterozygosities expected and observed, and Average number of alleles from the populations of Pampa Chaqueño (PCH), Criollo Pilcomayo (CNE) and Hereford (HER)*).

Población	N	(HE)	Desvío Estándar (HE)	(HO)	Desvío Estándar (HO)	(NA)	Desvío Estándar (NA)
PCH	95	0,7511	0,0145	0,7202	0,0089	8,85	2,25
CNE	36	0,7635	0,0178	0,7412	0,0141	7,85	1,92
HER	30	0,6779	0,0197	0,6597	0,0168	4,96	1,63

HE: Heterocigosidad esperada; HO: Heterocigosidad observada; NA: Número promedio de alelos y Num: Números de animales

Sumando los 95 PCH, 36 CNE y 30 Hereford incluidos en este trabajo, en Promedio, fueron encontrados 22 alelos, evidentemente los valores de número de alelos muestran relación con la heterocigosidad de cada población. Esto también fue encontrado en estudios de otros autores (Cornuet & Luikart, 1996; Moazami *et al.*, 1997; Machugh *et al.*, 1998; Peelman *et al.*, 1998; Carvalho, 2000; Ginja, 2002; Sastre, 2003; Martínez, 2008). Por lo tanto, es de esperar que mayores valores ocurriesen en aquellas poblaciones donde hubo menor selección (Quiroz, 2007), como en el caso del Pampa Chaqueño y del Criollo Pilcomayo, y menores valores en la raza Hereford, cuyos animales pertenecen a una población pura con libro de registros zootécnicos. La importancia de estos valores es enorme ya que, este sería un criterio para evaluar la diversidad genética en una población o raza, cuando el objetivo es conservar y mantener un banco de reservas para posibles condiciones futuras adversas (Cardellino, 2003).

Cuando la heterocigosidad observada es mayor que la esperada, hay exceso de heterocigotos en las poblaciones o razas estudiadas, caso inverso, se presenta un caso de deficiencia de heterocigotos (Armstrong, 2004; Martínez, 2008). En este trabajo, la heterocigosidad observada (HO) presentó valores inferiores a la heterocigosidad esperada (HE) en ambas poblaciones bovinas criollas de Paraguay, sin que este resultado fuera significativo. El Hereford igualmente presentó esta tendencia, pero recordando que con número de alelos medios bajo. Ginja (2002) encontró igualmente pequeños déficits de heterocigotos en bovinos autóctonos portugueses. Procesos rígidos de selección y cruzamiento serían factores influyentes en la aparición de estos déficits, especialmente cuando estos rebaños criollos son sometidos a “procesos de mejoramiento genético” junto a razas especializadas o exóticas. Seguidamente Villalobos (2010), cita los estudios hechos en seis razas autóctonas españolas que mostraron valores inferiores en la HO y HE con 0,564 y 0,570 (Menorquina), 0,590 y 0,512 (Lidia), 0,617 y 0,588 (Pirenaica), 0,681 y 0,666 en (Asturiana). En cambio, para los estudios analizados por Boujenane & Ouragh (2010) encontraron valores de heterocigosidad observada y esperada, relativamente altas, en dos poblaciones de ganado autóctono marroquí (Oulmès-Zaer y Tidili) con un rango de 0.375 a 0.801 y de 0.562 a 0.833), respectivamente.

En la tabla II se observan valores de heterocigosidad esperada o diversidad genética y el contenido de información polimórfica (PIC) por *loci* de microsatélites empleado en este estudio (27), utilizado para las tres poblaciones analizadas; estos valores pueden considerarse altos, especialmente en las poblaciones de Criollo Pilcomayo (0,7635) y Pampa Chaqueño (0,7511). Según Armstrong (2004) consideró valores de heterocigosidad superiores a 0,5 como altos. El Criollo Pilcomayo presentó los mayores valores de heterocigosidad en 16 *loci* de microsatélites, seguido del Pampa Chaqueño con valores superiores en ocho y el Hereford en dos (*HAUT27* con 0,7559 y el *SPS115* con 0,7633). En consecuencia, el Hereford obtuvo el menor promedio de Heterocigosidad o de diversidad genética. Igualmente se registró que el Pampa chaqueño con valores inferiores de heterocigosidad solamente en el microsatélite *ETH185* (0,7349), aun siendo este valor bastante alto. Para los estudios analizados por Boujenane & Ouragh (2010), encontraron valores de HO y HE, relativamente altas, en dos poblaciones de ganado autóctono marroquí (Oulmès-Zaer y Tidili), dentro de un panel de 8 *loci* de microsatélites (*BM1824*, *ETH225*, *ETH3*, *BM2113*, *TGLA122*, *TGLA126*, *TGLA227* y *TGLA53*), la HO y HE media fue de 0.573 < 0.751 para Oulmès-Zaer y de 0.522 < 0.738 para Tidili, señalando que valores bajos de heterocigosidad encontradas para una de las poblaciones marroquí, puede deberse a que el tamaño de la población fue muy reducida por ende indican cierta pérdida de variabilidad. Por otro lado, Berjano *et al.* (2012) con 12 microsatélites, observaron una HO igual a 0,689 y una HE igual a 0,736 en razas criollas Romosinuano de Colombia. Aguirre *et al.* (2014) con un panel de 28 microsatélites obtuvieron valores superiores de HO y HE 0,676 y 0,74 respectivamente, para la población de criollos de la Región Sur del Ecuador; existiendo únicamente cuatro marcadores genéticos que presentaron un menor grado de heterocigosis: *HAUT27*, *HELI3*, *ILSTS011* e *INRA35*, determinando que hay una buena variabilidad genética. Seguidamente los estudios de Mejía *et al.* (2015) registraron valores superiores en los números de alelos por locus y en la heterocigosidad observada para la raza criolla de Colombia y evidenciaron que de un panel de 11 microsatélites, solo 5 *loci* de SSR exhibieron una mayor diversidad genética, (*BM2113* con 0,90; *ETH3* con 0,92; *ETH225* con 0,86; *TGLA126* con 0,81 y *TGLA227* con 1), en comparación a otras razas como Holstein, Jersey, Normando y Pardo Suizo, difiriendo así muy poco en los mismos *loci* de microsatélites, utilizados para ambos criollos paraguayos. Según los estudios de Eusebi *et al.* (2016), con un panel de 24 microsatélites,

reportaron que el número de alelos por locus varió de 5 a 11 en la población mexicana y de 6 a 20 alelos por locus en los linajes españoles. Con respecto a las HO, las medias entre los loci fueron 0.59 en las muestras mexicanas versus 0.54 en las muestras españolas y las HE fueron 0.62 y 0.59 de las muestras mexicanas y españolas, respectivamente. Así también los trabajos de Pereira *et al.* (2017) con 17 microsatélites, registraron altos valores de HO y HE igual a 0,703 y 0,664, respectivamente, mostrando un exceso de heterocigotos en la población estudiada, en ganado Criollo de los Valles de Santa Cruz Bolivia.

Tabla II. Valores de diversidad o heterocigosidad y Contenido de información polimórfica (PIC) por Loci de microsatélites en las poblaciones de Pampa Chaqueño, Criollo Pilcomayo y Hereford (*Diversity or heterozygosity values and polymorphic information content (PIC) by microsatellite loci in the populations of Pampa Chaqueño, Criollo Pilcomayo and Hereford*).

Microsatélites	Heterocigosidad o Diversidad genética			Contenido de Información Polimórfica		
	PCH	CNE	HER	PCH	CNE	HER
BM 8125	0,7516	0,7758	0,7435	0,7164	0,7408	0,6856
BM1314	0,7486	0,8795	0,7552	0,7078	0,8536	0,7038
BM1818	0,6799	0,5462	0,6429	0,6212	0,5078	0,5749
CSSM66	0,8856	0,8865	0,8373	0,869	0,8614	0,802
ETH10	0,7668	0,7942	0,7235	0,7244	0,7514	0,6595
INRA32	0,8506	0,795	0,7009	0,8267	0,7585	0,6324
INR 37	0,6586	0,7946	0,6751	0,5921	0,7508	0,6252
MM12	0,8359	0,8459	0,7441	0,81	0,813	0,6904
TGLA122	0,7502	0,8224	0,565	0,7245	0,7851	0,5237
BM2113	0,857	0,8689	0,7605	0,8351	0,8406	0,7159
CRSM60	0,7621	0,7868	0,6559	0,7321	0,7458	0,5815
ETH185	0,7349	0,831	0,7395	0,6928	0,7958	0,6768
HAUT27	0,7118	0,6542	0,7559	0,6808	0,6005	0,7095
HEL13	0,6968	0,6702	0,6853	0,6483	0,6326	0,6202
HEL9	0,8352	0,8185	0,7367	0,8123	0,783	0,6758
ILSTS6	0,7348	0,7265	0,7072	0,6949	0,6664	0,6405
INRA23	0,6788	0,8016	0,5203	0,6266	0,762	0,4406
INRA63	0,6189	0,6334	0,5245	0,5504	0,5485	0,3992
SPS115	0,7173	0,6166	0,7633	0,6714	0,582	0,7133
TGLA227	0,8255	0,856	0,793	0,7988	0,8248	0,7463
BM1824	0,7248	0,6937	0,6153	0,6722	0,6272	0,556
ETH 225	0,8184	0,8349	0,7684	0,7879	0,7992	0,7147
ETH3	0,679	0,7801	0,452	0,6505	0,7386	0,3457
HAUT24	0,7558	0,804	0,6851	0,715	0,7685	0,6137
ILSTS011	0,7764	0,6764	0,5062	0,7347	0,6127	0,3739
INRA35	0,585	0,6115	0,5062	0,508	0,5632	0,3739
TGLA53	0,8391	0,8103	0,7384	0,8143	0,7759	0,6772
Promedio	0,7511	0,7635	0,6779	0,7118	0,7218	0,6101

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

La raza Hereford presentó los valores más bajos de diversidad genética y de contenido de información polimórfica, esto sugiere mayor uniformidad genética encontrada en esta raza. Esta tendencia permaneció en casi todos los microsatélites. Las razas que fueron sometidos a estrictos procesos de selección durante mucho tiempo, como es el caso de la raza Hereford, por lo general presentarían menores valores de diversidad y PIC, cuando son comparadas a poblaciones con formación más reciente. En el estudio de Radko *et al.* (2005) se encontraron valores de heterocigosidad y de PIC superiores en la raza Hereford de Polonia, a los encontrados

en este trabajo. Posteriormente según los estudios de Pizarro *et al.* (2009) también registraron valores superiores en la heterocigosidad y PIC promedia igual a 0,72 y 0,69 respectivamente, en la raza Hereford del Sur de Chile, con 10 microsatélites (*ETH3*, *TGLA122*, *TGLA227*, *BM1824*, *ETH10*, *ET225*, *BM2113*, *INRA23*, *SPS115* y *TGLA115*), cabe mencionar que el Hereford presentó valores inferiores solo para 3 *loci* de microsatélites (*INRA23* con 0,41; *ETH3* con 0,42 y *TGLA115* con 0,61), y valores superiores que oscilo de 0,90 a 0,76 en los *loci* de microsatélites restantes.

Los valores de PIC registrados en los criollos paraguayos, Pilcomayo y Pampa Chaqueño, fueron similares a los encontrados por Carvalho (2000), en bovinos autóctonos portugueses, y por Quiroz (2007) en criollos mexicanos. Por otro lado, fueron levemente superiores a los encontrados por Armstrong (2004) en criollos uruguayos, por Yoon *et al.* (2005) en bovinos coreanos, por Martínez (2008) en criollos argentinos, por Villasmil *et al.* (2008) en Limonero venezolana, por Villalobos (2010) en la raza Guaymi panameña, por Aquino *et al.* (2015) en criollos peruanos, aunque en este estudio solo utilizaron un panel de 5 *loci* de microsatélites para 3 poblaciones, de los cuales solo tres *loci* de SSR coinciden con este trabajo en estudio (*BM1824* con 0,721; *BM1818* con 0,76 y *ETH225* con 0,76). En cambio, Aguirre *et al.* (2014) estudiando criollos de la Región Sur del Ecuador, verificó un valor de PIC promedio de 0,7 difiriendo mínimamente a lo encontrado para los dos criollos paraguayos, Pampa Chaqueño PCH (0,7118) y Criollo Pilcomayo CNE (0,7218). Quiroz (2007), destacó que los valores de PIC en microsatélites son generalmente altos debido a que estos marcadores son codominantes y multialelicos. Por lo tanto, para estudios genéticos se deben escoger los microsatélites con valores superiores. Varios autores coincidieron que el PIC depende del número de alelos y de la distribución de sus frecuencias (Carvalho, 2000; Ginja, 2002; Armstrong, 2004; Martínez, 2008). Sin embargo, Tavares (2002), mencionó que no necesariamente marcadores con mayor número de alelos presentarán mayor valor de PIC. No obstante, en este trabajo se observó una relación positiva entre el número de alelos, la heterocigosidad y el PIC. Las informaciones reveladas por todos los microsatélites utilizadas en este trabajo fueron bastantes informativas.

En la tabla III se encuentra el resultado de la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) en los 27 microsatélites utilizados en este estudio de perfil genético, en las dos poblaciones criollas y el hereford colectado en Paraguay. Esta prueba básicamente provee de validez a los resultados que surjan en el conjunto de herramientas utilizadas en un estudio genético. Con un grado de libertad igual a 54, los desvíos de HW fueron estadísticamente significativos para las tres poblaciones. El Pampa Chaqueño fue la población con mayor número de desequilibrio, seguida del Criollo Pilcomayo y del Hereford, con (5; 4 y 4) respectivamente. Por lo tanto, las diferencias en cantidades de microsatélites en desequilibrio por poblaciones fueron mínimas, dejándolos prácticamente en condiciones similares a las tres poblaciones. Estos valores dan consistencia al estudio, ya que se asume que las poblaciones estuvieron en equilibrio de HW, en un panel de microsatélites considerados bastantes informativos para las tres poblaciones bovinas estudiadas.

Nueve microsatélites presentaron apenas un desequilibrio, *CSSM66*, *ETH10*, *INRA32*, *INRA37*, *ETH185*, *HAUT27*, *HEL13*, *ILSTS6* e *TGLA227*. Los microsatélites más desequilibrados fueron *HAUT24* y el *INRA35*, en dos poblaciones cada una. Quiroz (2007) en un estudio similar encontró 10 poblaciones desequilibrados con el *INRA35*. De la misma forma, este microsatélite fue el que obtuvo mayor desequilibrio en el estudio de Martínez (2008), analizando criollos argentinos. Este autor mencionó que esto se debería a un déficit de heterocigotos. Finalmente, 16 microsatélites (el 60% de los microsatélites utilizados en este trabajo) no presentaron ningún desequilibrio. Por lo tanto, la mayor parte de los marcadores estuvieron equilibrados y resultaron polimórficos. Quiroz (2007) mencionó que cuando existen muchos microsatélites desequilibrados, hay indicios de que algunos factores están produciendo cambios en las frecuencias genotípicas de la población, como ser la mutación migración, selección o deriva genética. Igualmente, errores de tipificación sería otro factor responsable en el desequilibrio de muchos microsatélites, que según Pompanon *et al.* (2005), estos errores constituyen entre 60 e 80%. Aguirre *et al.* (2014) reportó nueve marcadores moleculares de tipo SSR, en desequilibrio (*BM1824*, *BM2113*, *HAUT27*, *ETH225*, *ETH3*, *HAUT24*, *ILSTS011*, *INRA35* y *TGLA53*) en las razas criollas de la Región Sur del Ecuador, donde mencionan que estas desviaciones de HW pueden estar dándose por ciertos factores influyentes: como la intervención del propietario en la selección y en el apareamiento de los animales; migración de animales por la cercanía geográfica entre las poblaciones y por no

tener núcleos de animales fenotípicamente homogéneos. Resultados de Solórzano *et al.* (2015), mostraron que cinco de las ocho regiones de Costa Rica; (Brunca, Central Sur, Chorotega, Huetar Caribe y Pacífico Central) mantuvieron el equilibrio de HW para más del 70% de los *loci*, pero para las tres regiones restantes (Huetar Norte, la Central Occidental y la Central Metropolitana) persistieron en desequilibrio de HW, que finalmente concluyen que una menor cantidad de muestras podría ejercer un rol importante, ya que la potencia estadística se reduce y se dificulta declarar desviaciones significativas. En cambio, la región con mayor número de muestras (Huetar Norte) fue la que mantuvo la mayor proporción de *loci* en desequilibrio; que se correlacionan con lo obtenido en este trabajo, donde el Pampa Chaqueño (PCH) fue la población con mayor número de desequilibrio de HW y la población con mayor número de muestras analizadas. Con respecto a los bovinos de la raza Lidia mexicana y españoles, los estudios de Eusebi *et al.* (2016) observaron que el número de loci desviados del equilibrio de Hardy-Weinberg fue mayor para la población española, con un promedio de siete loci por criador en comparación con el promedio de dos loci por linaje en la población mexicana.

Tabla III. Prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) en los 27 microsatélites usados en las poblaciones Pampa chaqueño, Criollo Pilcomayo y Hereford (*Hardy-Weinberg equilibrium test (HW) in the 27 microsatellites used in the Pampa Chaqueño, Criollo Pilcomayo and Hereford, populations*).

Microsatélites	PCH	CNE	HER	Total
BM8125				0
BM1314				0
BM1818				0
CSSM66			*	1
ETH10		*		1
INRA32	*			1
INRA37			*	1
MM12				0
TGLA122				0
BM2113				0
CRSM60				0
ETH185	*			1
HAUT27		*		1
HEL13	*			1
HEL9				0
ILSTS6	*			1
INRA23				0
INRA63				0
SPS115				0
TGLA227			*	1
BM1824				0
ETH225				0
ETH3				0
HAUT24		*	*	2
ILSTS011				0
INRA35	*	*		2
TGLA53				0
Total	5	4	4	

*Marcador en desequilibrio ($P < 0.05$); PCH: Pampa Chaqueño; CNE: Criollo Pilcomayo y HER: Hereford.

En pruebas de equilibrio de HW, resultados similares fueron encontrados en criollos uruguayos por Armstrong, (2004) y con el mismo panel de microsatélites, en criollos mexicanos por Quiroz (2007). El panel empleado en este trabajo ha sido ampliamente testado en estudios similares, ya que 26 de los microsatélites de este trabajo

forman parte de los utilizados en el proyecto europeo de biodiversidad bovina (<http://www.projects.roslin.ac.uk/cdiv/>).

Los valores promedios de FIS, FIT y FST a partir de los 27 microsatélites fueron obtenidos a partir de las dos poblaciones criollas paraguayas y de los animales de la raza Hereford incluidos en este estudio, obtenida por el programa GENETIX son observadas en la tabla IV. Los estadísticos F están en función directa al equilibrio de HW y deben ser considerados gravitantes en la determinación de la identidad genética de las poblaciones (Quiroz, 2007), al igual que ayudan a conocer su perfil genético, mostrándonos el grado de diversidad intra-poblaciones e inter-poblaciones. Los rangos mínimos y máximos obtenidos para el FIS fueron de -0,14799 en el microsatélite *INRA63* y 0,19107 en el microsatélite *ETH185*; para el FIT fue -0,08328 en el microsatélite *INRA63* y 0,26107 en el microsatélite *ILSTS011*, finalmente, para el FST fue de 0,00726 en el microsatélite *TGLA53* y 0,14935 en el microsatélite *ETH3*. Los promedios en los 27 microsatélites para el FIS, FIT y FST fueron 0,03342, 0,08643 y 0,05531 respectivamente.

Tabla IV. Valores promedios de FIS, FIT y FST de las dos poblaciones criollas paraguayas y de la raza Hereford, determinados por el método de Jackknife (*Average values of FIS, FIT and FST of the two Paraguayan Creole populations and of the Hereford race, determined by the Jackknife method*).

Microsatélites	FIS	FIT	FST
Media	0.03342	0.08643	0.05531

FIS: Pérdida de heterocigocidad; FIT: Pérdida global de la heterocigocidad y FST: Grado de diferenciación. Intervalo de Confianza del 95%.

El FIS mide la reducción de heterocigocidad debido a cruzamientos no aleatorios en la población, a través del cual indica el grado de endogamia en los individuos de la población. Es una correlación estadística que toma valores desde -1 a +1, donde el símbolo negativo indica exceso de heterocigotos en la población, y caso contrario, el símbolo + indica el exceso de homocigotos (Martínez *et al.*, 2007). Según Hartl (1998), valores de FIS entre 0 y 0,05 son considerados bajos; entre 0,06 e 0,015 medios; entre 0,16 y 0,25 altos, y finalmente, cuando es mayor a 0,25, es considerado muy elevado.

Igualmente, Armstrong (2004) mencionó que los valores de FIS son de forma general bajos y no se mantienen significativamente diferentes de cero, concordando con la situación de equilibrio de HW, que caracteriza a la mayor parte de los marcadores microsatélites. La media del índice estadístico FIS en las poblaciones criollas paraguayas (0,03342), considerada baja, fue similar a las encontradas por Quiroz (2007) en criollos mexicanos. Con valores de FIS próximos a cero, se puede considerar a la población con una buena estabilidad genética, lo cual fue observado en las poblaciones paraguayas estudiadas, aunque el riesgo de surgir cruzamientos masivos con razas exóticas “mejoradas” es permanente, al punto de poner en riesgo esta diversidad existente en estos criollos de Paraguay. Igualmente, estos valores de FIS indican un reducido nivel de endogamia en los criollos paraguayos. Esto sugiere que el perfil genético de los criollos paraguayos, PCH y CNE, muestran buena riqueza y diversidad genética. Resultados similares encontró Armstrong (2004) en criollos uruguayos y a lo reportado por Berjano *et al.* (2012) con un panel de 12 microsatélites, para ocho subpoblaciones de razas criollas Romosinuano de Colombia, observaron FIS promedio igual a 0,0051, cabe mencionar que en dos fincas obtuvieron valores negativos para FIS, muy cercanos a cero, lo que podría deberse principalmente al número reducido de individuos (4animales), seguidamente para otras dos poblaciones encontraron valores muy similares (0,10 y 0,16) revelando que existe una importante fijación de alelos dentro de todas las poblaciones de la raza criolla Romosinuano. Para los valores de FST presentaron valores bajos para cuatro poblaciones, indicando que los individuos de estas subpoblaciones comparten un mayor número de alelos, al igual que sus frecuencias alélicas, lo que hace que en cierta forma muy cercanas genéticamente y esto a causa del mismo origen genético. En cambio para otras dos poblaciones presentaron valores de FST superiores, sugiriendo que los individuos que componen estas subpoblaciones, se encuentran distanciados genéticamente, debido a que no comparten muchos alelos en común, en cambio para los estudios realizados por Mejía *et al.* (2015) evidenciaron un valor moderado de endogamia para la raza criolla de Colombia, para un panel de 5 loci de microsatélites (*BM2113* con -0,07; *ETH3* con -0,15; *ETH225* con -0,13; *TGLA126* con -0,18 y *TGLA227* con -0,10). Para los criollos de Pasorapeño Cochabamba Bolivia, se registraron valores de HO y HE igual a 0,664

y 0,755, respectivamente con un alto número de alelos promedios 8,24; en comparación a las 8 poblaciones estudiadas, demostrando que hay una gran variabilidad genética e inclusive se diferencia del criollo Yacumeño y más del Criollo del CIAT-Saavedra, presentando un perfil génico semejante a la mayoría de razas criollos, estableciendo que la población bovina criolla de Pasorapa, posee características génicas propias que justifican su caracterización genética y fenotípica (Ferrufino *et al.*, 2016). Y para los estudios de Eusebi *et al.* (2016) reportaron FIS promedio de 0.041, en la población mexicana, dos veces menor que en los linajes españoles (0.083) y para los valores medios de FST para la población mexicana y española fue de 0.10 y 0.18, respectivamente; para ambos parámetros se observaron valores superiores con relación a la población de criollos paraguayos. El valor medio de FST 0,05531 es considerado moderado, según la escala de Magni (2005), la cual indica que hay buena variabilidad genética entre las poblaciones paraguayas estudiadas. En el estudio de Quiroz (2007), con cinco poblaciones criollas mexicanas, el valor medio de FST fue bajo (0,0033). Este resultado, junto a otros obtenidos por el mismo autor mexicano, lo llevaron a la conclusión que los criollos mexicanos podrían considerarse como un solo grupo genético o raza. Caso diferente a lo observado en este trabajo, ya que el valor es bastante superior. Sin embargo, Ripoli *et al.* (2000), obtuvieron valores levemente superiores (0,04) con el criollo argentino. Otros valores de FST encontrados en razas bovinas de corte fueron de 0,089 en el trabajo de Ciampolini *et al.* (2006) y de 0,07 en el estudio de Cañon *et al.* (2001). En un estudio con 18 razas europeas bovinas, que comprendía razas de España, Francia y Portugal, el FST fue 0,068. Posteriormente, cuando el estudio fue hecho por razas pertenecientes a cada país, los valores de FST fueron 0,0038; 0,071 y 0,060 en Francia, España y Portugal respectivamente (Jordana *et al.*, 2003). Por otra parte, los estudios de Aguirre *et al.* (2014) en razas criollas de la Región Sur del Ecuador, reportan valores de FST medio igual a 0,0008 encontrados en cuatro grupos fenotípicamente definidos, valor muy inferior a lo reportado por varios autores citados más arriba, incluso al estudio en cuestión que son para las dos poblaciones criollas del Paraguay, como así también para la tercera población el Hereford pura colectada en Paraguay. También evidencian que para los valores de FIT y el FIS, hay nueve marcadores que presentan valores negativos (exceso de heterocigosis); en este caso, son once los marcadores con un FIT y FIS superior a 0,10 (*BM8125*, *TGLA122*, *BM2113*, *HAUT27*, *INRA23*, *INRA37*, *SPS115*, *ETH3*, *HAUT24*, *ILSTS011* e *INRA35*). De acuerdo a los resultados de estos estadísticos, la media del FIT con 0,0889 y FIS con 0,0892, representan valores superiores frente a las dos poblaciones de bovinos criollos paraguayos; y se evidencia que existe un exceso de homocigosis que puede deberse a una elevada consanguinidad.

Con el método de Belkhir *et al.* (2003), se consideraron las variaciones sobre los ajustes hechos por la técnica de remuestreo, según el método de Jackknife, por microsatélite y por población incluida en este análisis. Esto permitió obtener un intervalo de confianza a las estimaciones de cada parámetro. Los valores medios de las desviaciones fueron 0,01343; 0,01420 y 0,00660, para FIS, FIT y FST, respectivamente. Esto indica que existe mayor variación entre las tres poblaciones bovinas estudiadas, que, dentro de cada una de ellas, presuponiendo razonable homogeneidad dentro de cada población y, una importante diferencia genética entre las tres poblaciones de Paraguay analizadas. Otros estudios como los de Aquino *et al.* (2008), estudiaron los parámetros genéticos de tres poblaciones de razas bovinas criollas del Perú (Puno, Junin y Ayacucho), donde el menor valor de diferenciación fue de FST igual a 0,01 (Puno – Junin); mientras que el de mayor valor fue igual 0,03 (Ayacucho – Junin), a pesar de la cercanía geográfica entre estas regiones. Boujenane & Ouragh (2010) estudiando dos poblaciones bovinas autóctonas marroquí, registraron valores medios de FST, FIS y FIT igual a: 0,032; 0,262 y 0,285; respectivamente, mientras que para este estudio se observaron valores superiores en la FST, FIS y FIT igual a 0,05531; 0,03342 y 0,08643 para las dos poblaciones de criollos paraguayos (Pampa Chaqueño y Criollo Pilcomayo).

CONCLUSIONES

Las poblaciones bovinas criollas de Paraguay, Pampa Chaqueño y Criollo Pilcomayo presentaron perfil y diversidad genética claramente diferenciada, constituyéndolos así, en un patrimonio genético bovino del país. Estas poblaciones genéticas conforman 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, por todas las contribuciones hechas para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre L., Apolo G., 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.
- Aquino Y.N., Veli E.A., Rivas E., Rivas V. & Estrada R. 2008. Variabilidad genética de bovinos criollos de Perú utilizando marcadores microsatélites. *Archivo de Zootecnia.*, 57, 337-340.
- Anales I. 2002. Asociación de Criadores del Pampa Chaqueño. Asunción: Asociación Paraguaya de Criadores de Pampa Chaqueño, 119 p.
- Armstrong. 2004. Análisis de la diversidad genética del bobino criollo uruguayo mediante microsatélites. Tesis (Maestría en Ciencias biológicas). Departamento de Genética Molecular de la Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba, España.
- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N. & Bonhomme F. 2003. Genetix: 4.05 logiciel sous windowstm pour la genétique des populations. In: U. d. Montpellier (ed.). *Laboratoire Genoma Populations, Interactions, Adaptations*, Montpellier, France.
- Bejarano D., Pedraza A., Rocha J.F. & Martínez R. 2012. Genetic variability in commercial subpopulations of creole colombian breed Romosinuano. *Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 13, 97-107.
- Boujenane I. & Ouragh L. 2010. Genetic Analysis of native Moroccan cattle. *Investigación ganadera para el desarrollo rural*, v.22 n.8
- Cañon J., P Alexandrino I., Bessa C., Carleos Y., Carretero S., Dunner N., Ferran D., Garcia J., Jordana D., Laloe A., Pereira A., Sanchez. & Moazami-Goudarzi K. 2001. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. *Genetics Selection Evolution* 33, 311-332.
- Cardellino R. A., 2003. Animal Genetic Resources Conservation and Development: The Role of FAO. *Animal Production and Health Division*. FAO. 00100 Rome. Italy. *Archivo de Zootecnia.*, 52, 185-192. Córdoba.
- Carvalho I.M.B.S. 2000. Caracterização Genética de Raças Bovinas Autóctones Portuguesas. *Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada)*. Universidade do Porto. 136p
- Ciampolini R., V., Cetica E., Ciani E., Mazzanti X., Fosella F., Marroni M., Biagetti C., Sebastiani P., Papa G., Filippini D., Cianci & Presciuttini S. 2006. Statistical analysis of individual assignment tests among four cattle breeds using fifteen STR loci. *Journal of Animal Science* 84, 11-19.
- Cornuet J.M. & Luikart G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144, 2001-2014.
- Eguarte L.E., Aguirre J.A., Jardón-Barbolla L. et al. 2013. Genómica de poblaciones: nada en evolución va a tener sentido si no es a la luz de la genómica, y nada en genómica tendrá sentido si no es a la luz de la evolución. *TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16, 42-56.
- Eusebi P.G., Cortés O., Dunner S. & Cañon J. 2016. Genetic diversity of the Mexican Lidia bovine breed and its divergence from the Spanish population. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 134, 332 - 339
- 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. FAO.
- 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.
- Gomes I., Collins A., Lonjou C., Thomas N.S., Wilkinson J., Watson M., & Morton N. 1999. Hardy-Weinberg quality control. *Annals of Human Genetics* 63, 535-538.

- Grzybowski G.Y.B. & Prusak. 2004. Genetic variation in nine European cattle breeds as determined on the basis of microsatellite markers. III. Genetic integrity of the Polish Red cattle included in the breeds preservation programme. *Animal Science Papers and Reports* 22, 45-56.
- Guo S.W. & Thompson E.A. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics*. 48, 361-372.
- Hartl D.L. 1998. A primer of population genetics. Sinauer Ass. Inc. Publishers, Massachusetts.
- Johansson A., Karlsson P. & Gyllensten U. 2003. A novel method for automatic genotyping of microsatellite markers based on parametric pattern recognition. *Human Genetics* 113, 316-324.
- Jordana J., Alexandrino P., Beja-Pereira A., Bessa I., Cañon J., Carretero Y., Dunner S., Laloe D., Moazami-Goudarzi K., Sanchez A. & Ferrand N. 2003. Genetic structure of eighteen local south European beef cattle breeds by comparative F-statistics analysis. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 120, 73-87.
- 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.
- 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., Llorente R.V., Quiroz J., Martínez R.D., Armstrong E., Martínez O.R., Sponenberg P.S., Camacho M.E., Marques J.R., Zambrano D., Vega-Pla J.L., Cabello A., Mayorga F., Villafuerte J.L. & Delgado J.V. 2007. Estudio de la influencia de la raza bovina marismeña en la formación de los bovinos criollos. In: X Congreso Iberoamericano de razas criollas y autóctonas y VII simposio Iberoamericano sobre conservación y utilización de recursos zoogenéticos. Rio Bamba. Resúmenes de Ponencias y Comunicaciones.
- 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 microsatélites. 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. Estudo da Curva de Crescimento de Touros Jovens "Pampa Chaqueño" no Paraguai, utilizando modelos Não-Lineares. Tese de Mestrado. UFRPE-Recife. Brasil.
- 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. Analysis of genetic diversity of dairy cattle in the high tropic of nariño by molecular heterologous microsatellite markers. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 62, 18-33.
- Moazami-Goudarzi K., Laloe D., Furet J.P. & Grosclaude F. 1997. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics*, 28, 338-345.
- Molina L. & Moriya H. 1998. Sistemas de Producción agropecuario en el Chaco paraguayo. San Lorenzo: Proyecto de desarrollo sustentable del Chaco paraguayo.
- Paraguay. 2005. La ganadería paraguaya descuidó razas criollas. Agência Nacional de Informação Agropecuária (ANIA). M.R. Alonso: Asociación Rural de Paraguay (ARP), Disponível na Internet. <www.arp.org.py> Acesso em: 30 de ago.
- 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.
- Pereira J.A.C., Gutierrez L., Siancas M., Orellana J., Loza A.J., Rogberg-Muñoz A., Castillo N.S., Posik D.M. & Giovambattista G. 2017. Genetic characterization of the creole cattle population from los valles (Santa Cruz, Bolivia) through autosomal, mitochondrial and y-chromosome genetic markers. *Actas Iberoamericanas en Conservación Animal*. AICA 10, 41-50.
- Pizarro M.G., Mujica F. & Felmer R. 2009. Estructura poblacional y diversidad genética de rebaños bovinos de carne del sur de Chile. *AGRO SUR* 37, 60-83.
- Pompanon F., A. Bonin E. Bellemain. & Taberlet P. 2005. Genotyping errors: causes, consequences and solutions. *Nature Reviews Genetics* 6, 847-859.

- Quiroz-V J. 2007. Caracterización genética de los bovinos criollos Mexicanos y su relación con otras poblaciones bovinas. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, España.
- Radko A., Zyga A., Zabek T. & Slota E. 2005. Genetic variability among Polish Red, Hereford and Holstein-Friesian cattle raised in Poland based on analysis of microsatellite DNA sequences. *Journal of Applied Genetics* 46, 89-91.
- Raymond M. & Rousset F. 1995. Genepop (Versão 1.2): A population genetics software for exact test and ecumeinism. *J. Hered.* 86, 248-249.
- Ripoli M.V., Giovambattista G., De Lúea F. & Dulout F.N. 2000. Formación de un plantel base de ganado bovino Criollo Argentino para producción lechera. Efecto sobre las frecuencias génicas de seis loci. *Agro Sur* 28, 105-122.
- Sastre H.J. 2003a. Descripción, situación actual y estrategias de conservación de la raza bovina colombiana criolla Casanare. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, España.
- Sastre H.J., Rodero E., Rodero A., Azor P.J., Sepulveda N.B., Herrera M. & Molina A. 2003b. 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.
- Solórzano J.M., Vargas B., León B., Chacón I. & Martínez M. 2015. Genetic diversity in cattle of eight regions in Costa Rica. *Agron. Mesoam* v.26 n.2 San Pedro
- Tavares. 2002. Caracterización genética del caballo Pantaneiro. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, España.
- Villalobos A. 2010. Caracterización genética de las poblaciones bovinas Guaymí y Guabala y su relación con otras poblaciones bovinas mediante microsatélites. Tesis de doctorado, Universidad de Córdoba, España, 70-72, 78-87.
- Villasmil Y., Roman R. & Yañez L., Contreras G., Jordana J. & Aranguren J. 2008. Diversidad genética de la raza criollo Limonero utilizando marcadores de ADN microsatélites. *Revista Científica FCV-LUZ* 18, 415-423.
- Weir B.S. & Cockerham C. 1984. Estimating F-statistics for analysis of population structure. *Evolution*, 6, 1358-1370.
- Yoon D.H., Kong H.S., Oh J.D., Lee J.H., Cho B.W., Kim J.D., Jeon K.J., Jo C.Y., Jeon G.J. & Lee H.K. 2005. Establishment of an individual identification system based on microsatellite polymorphisms in Korean cattle (Hanwoo). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18, 762-766.