

Evaluación de la variabilidad y potencial genético de poblaciones de bovinos criollos colombianos

R. Martínez¹, J. Gallego², G. Onofre³, J. Pérez⁴ & R. Vasquez¹

¹C.I. Tibaitatá, C.I. Tibaitatá, Km way to Mosquera, Cundinamarca.
Animal genetic and Biotechnology Group, Corpoica, Colombia

²E.E. El Nus, San Roque, Antioquia,

Animal genetic and Biotechnology Group, Corpoica, Colombia

³C.I. La Libertad, Villavicencio, Meta, Animal genetic and Biotechnology Group
Corpoica, Colombia

⁴C.I. Turipaná, Montería, Córdoba, Animal genetic and Biotechnology Group,
Corpoica, Colombia

Resumen

El presente trabajo presenta un análisis de la variabilidad y el potencial genético de las poblaciones de bovinos criollos utilizados en un Programa Nacional de Fomento, desarrollado por organismos gubernamentales (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Instituto Colombiano Agropecuario y Corpoica). Se hizo el análisis de la información productiva de poblaciones de las razas Romosinuano, Costeño con Cuernos, Sanmartinero y Blanco Orejinegro, mediante el uso de la metodología BLUP, se calcularon los valores genéticos directos para peso al nacimiento, destete, 16 meses y ganancia de peso al destete y se realizó el análisis de la distribución de los animales por sus valores genéticos. Se encontró que en cada una de las razas existe una alta proporción de animales con valores genéticos positivos, siempre superior al 50%, lo cual indica una amplia variabilidad genética y posibilidad de selección de individuos mejoradores, que asegurarán el progreso genético en el programa de fomento que será desarrollado.

Summary

This work is an analysis of the variability and genetic potential of Colombian Creole cattle populations used in a national promotion program developed by the governmental organisations of the Ministry of Agricultural and Rural Development, the Colombian Agricultural Institute and the Colombian Corporation for Agricultural Research (CORPOICA). The analysis of productive information was made for populations of

Romosinuano, Costeño con Cuernos, Sanmartinero and Blanco Orejinegro breeds, through use of BLUP methodologies, and was calculated using the direct additive genetic values for birth, weaning and 16 month weight and daily weight gain to weaning. This resulted in an analysis of animal distributions by their genetic values. It was found that each breed had a high proportion of animals with positive genetic values, always greater than 50%, which indicates a high genetic variability and genetic selection potential for improved animals. These factors assure the potential for genetic improvement in the promotion program that will be developed.

Résumé

Ce travail présente une analyse de la variabilité y du potentiel génétique des populations de bovins créoles utilisés dans un Programme National de Vulgarisation mis en place par des organismes gouvernementaux (Ministère de l'Agriculture et Développement Rural, Institut Agronomique Colombien et Corpoica). On a réalisé une analyse de l'information productive des populations des races Romosinuano, Costeño con Cuernos, Sanmartinero et Blanco Orejinegro, à l'aide de la méthodologie BLUP. On a calculé les valeurs génétiques directes pour le poids à la naissance, au sevrage, à 16 mois, et pour le gain de poids au sevrage. Une analyse de la distribution des animaux selon leurs valeurs génétiques a été réalisée. On a trouvé que dans chacune des races il existe une proportion élevée d'animaux avec des valeurs génétiques positives, toujours supérieur à 50%, ce qui indique une large variabilité génétique et la possibilité de sélection des individus améliorateurs, qui garantiront le progres

génétique dans le programme de vulgarisation qui sera mené à terme

Key words: Creole cattle, Genetic evaluation, Genetic variability.

Introducción

Uno de los factores que influye sobre la baja eficiencia que presentan los sistemas tradicionales de producción bovina, en el trópico bajo colombiano es el uso inadecuado del recurso genético animal, ya que se ha utilizado razas foráneas y sus cruzamientos de manera indiscriminada sin ninguna evaluación y se ha dejado de utilizar el ganado criollo sin que existan razones técnicas y económicas que indiquen que los animales foráneos sean superiores.

Los trabajos que se conocen de cruces Criollo-Cebú han reportado niveles de heterosis del 6 al 12% para peso al destete y del 13 al 25% para peso a los 18 meses (Martínez y González, 2000; Martínez y Chavez, 2001; Martínez, 1999; Martínez *et al.*, 1994; Hernandez, 1998). Es de anotar que todos los cruzamientos se hicieron sin un criterio estricto de selección en los paternos (ni en la raza Criolla, ni en el Cebú). Hoy disponemos de herramientas que nos permiten mejorar la fiabilidad de los resultados esperados como son las evaluaciones genéticas; con base en ellas podemos seleccionar machos y hembras Criollos y (en lo posible) machos y hembras Cebú para un uso intensivo en cruzamiento industrial o comercial.

La conservación de los recursos genéticos animales carece de sentido si no se hace una utilización comercial de ellos en los diversos agroecosistemas nacionales. La palabra conservación implica preservación y utilización racional y hasta ahora los recursos de Bancos de Germoplasma Animal sólo soportan la preservación propiamente dicha.

La responsabilidad confiada a CORPOICA por parte del Ministerio de Agricultura en Convenio con el Instituto Colombiano Agropecuario, ha permitido el mantenimiento de los Bancos de Germoplasma *in situ* con estrategias de apareamiento circular cíclico, fortaleciendo de manera simultánea un sistema de Bancos de Germoplasma *in vitro* (Martínez *et al.*, 2005). Las condiciones actuales de los Bancos de acuerdo con su tamaño, las circunstancias financieras que implican el manejo de ellos y la necesidad de hacer la promoción de estas razas, hacen imperativo aumentar el tamaño de las poblaciones y procurar el mejoramiento

genético de las mismas. Por esto se está desarrollando el Programa Nacional de Fomento de Bovinos Criollos, como un esfuerzo de El Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y Corpoica, que se han planteado como objetivo, promover la utilización de bovinos de las razas criollas adaptadas al ambiente colombiano, que permita promover por parte de los ganaderos la cria de estas razas, y tener una información útil para implementar un plan de mejoramiento ganadero.

Para conseguir un mejoramiento genético sostenido, es necesario implementar estrategias de selección de las poblaciones, que consiste en la identificación de los individuos (machos y/o hembras) que mejor comportamiento productivo presentan, de acuerdo a los objetivos del productor y de esta forma se aumenta la frecuencia de genes favorables en la expresión de determinado carácter. Pero normalmente no tenemos información específica sobre los genes que los candidatos a selección poseen, sino que tenemos información fenotípica del individuo o de sus parientes (Telo L., 2002; 2004).

Este trabajo, tuvo como objetivo la utilización de metodologías de modelos mixtos para realizar la evaluación genética de cada una de las poblaciones de bovinos criollos de las razas Romosinuano (ROMO), Costeño con cuernos (CCC), Ubicadas en el C.I. Turipaná (Cereté Córdoba), la raza Sanmartinero (SM), ubicada en el C.I. La Libertad (Villavicencio, Meta), y la raza Blanco Orejinegro (BON), ubicada en la Estación Experimental El Nus (San Roque, Antioquia), que fueron seleccionadas para un programa de fomento y multiplicación de bovinos criollos en Colombia.

Materiales y Métodos

La información productiva fue obtenida de los núcleos de animales de las razas Criollas que se mantiene como Banco de Germoplasma. Cada una de las bases de datos comprende la información generada desde el año 1980 hasta el año 2004. Se analizaron los registros para características de peso de nacimiento (PNac), peso ajustado a los 270 días (Pdte), peso a los 480 días (P16m) y ganancia de peso desde el nacimiento hasta el destete (GP).

Se empleo el Procedimiento de Modelos Generales Lineales (GLM) del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System), para el calculo de las medidas de tendencia central y variación de datos fenotípicos, el modelo incluyó efectos de año

(1980-2004), sexo y número de parto (1-10). El modelo utilizado se describe así:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \lambda_k + e_{ijk}$$

Donde:

μ = promedio general de la variable;

α_i = Efecto de año de nacimiento del animal;

β_j = Efecto de sexo del animal;

λ_k = Efecto de número de parto en que nace el animal;

e_{ijk} = error experimental.

Para el análisis genético se utilizó el modelo, que se describe a continuación:

$$Y = X\beta + Za + Zm + Zp + e$$

Utilizando las ecuaciones del modelo mixto (EMM) (Henderson, 1975; 1988), donde Y es un vector de observaciones, β es un vector de soluciones para efectos fijos (año de nacimiento, sexo, número de parto) y X es la matriz de incidencia de los efectos fijos y Z es la matriz de incidencia de los efectos aleatorios; a es el vector de soluciones para valores genéticos, m es el vector de soluciones para efecto materno y p es el vector de soluciones para efectos de ambiente permanente, e corresponde a los valores residuales.

La estructura de (co)varianza de los efectos aleatorios para las características evaluadas fue:

$$V \begin{bmatrix} \mathbf{a} \\ \mathbf{m} \\ \mathbf{pe} \\ \mathbf{e} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{A}\sigma_a^2 & \mathbf{A}\sigma_{am} & 0 & 0 \\ \mathbf{A}\sigma_{am} & \mathbf{A}\sigma_m^2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \mathbf{I}_{pe}\sigma_{pe}^2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \mathbf{I}_n\sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

En este caso A es el numerador de la matriz de parentesco, σ_a^2 es la varianza aditiva genética directa, σ_m^2 es la varianza aditiva genética materna, σ_{am} es la covarianza genética aditiva directa-materna, σ_{pe}^2 es la varianza de ambiente materno permanente, σ_e^2 es la varianza residual, e \mathbf{I}_{pe} e \mathbf{I}_n son las matrices identidad con orden igual al número de madres y registros respectivamente. Los cálculos de heredabilidad aditiva directa, fueron hallados mediante componentes de varianza a partir del modelo animal por medio de la siguiente fórmula:

$$h_d^2 = \sigma_a^2 / \sigma_f^2$$

donde:

h_d^2 = Heredabilidad aditiva directa,

σ_a^2 = Varianza genética aditiva directa,

σ_f^2 = Varianza fenotípica total.

Para el caso de los componentes genéticos de tipo materno la heredabilidad se estimó mediante la siguiente fórmula:

$$h_m^2 = \sigma_m^2 / \sigma_f^2$$

donde

h_m^2 = Heredabilidad de los componentes genéticos maternos,

σ_m^2 = Varianza genética materna,

σ_f^2 = Varianza fenotípica total.

También se calculó el valor de exactitud de cada estimación como

$$r_{AP}^2 = 1 - C^{ii} \lambda$$

donde: $\lambda = \sigma_e^2 / \sigma_a^2$ y C^{ii} representa un mismo elemento en la matriz C^{-1} , como ha sido descrito por Misztal y Wiggans (1988) y Meyer (1989). Se presenta la media de los valores de exactitud para toda la población.

Mediante el Programa *Derivative Free Restricted Maximum Likelihood* (DFREML) (Smith y Grazer, 1986) se estimaron componentes de varianza de cada una de las características y a partir de estos se calcularon los parámetros genéticos. Los componentes de varianza genéticos aditivos directos y maternos para los diferentes pesos evaluados fueron también analizados mediante el paquete sistematizado *Multi Trait Derivative Free Restricted Maximum Likelihood* (MTDFREML) (Boldman *et al.*, 1991; 1993), usando como valores de inicio los obtenidos en DFREML, esto permitió estimar valores genéticos (VG) directos y maternos (no presentados). Con los valores genéticos individuales se calcularon los valores promedio anuales y se hizo un gráfico de la distribución de los valores individuales para peso al nacimiento, destete, ganancia al destete y peso a los 16 meses y se determinó la proporción de individuos con valores genéticos mayores de cero y menores de cero, como un indicativo de la tendencias, para lo cual se utilizaron procedimientos de regresión lineal.

Tabla 1. Comportamiento productivo de hembras de cada una de las razas criollas utilizadas en programas de fomento.

Razas criollas utilizadas	PNac		Pdtte		GP		P16m	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
BON	25,5±3,7	28,13±3,43	164,70±61,8	202,78±25,60	517,98±218,7	542,32±240,8	204,54±87,60	240,17±27,86
SM	27,0±2,9	26,74±3,32	165,32±60,2	166,92±50,90	550,23±305,2	520,84±250,6		
ROMO	28,7±6,1	31,55±3,84	175,95±74,9	187,11±63,83	563,78±231,8	581,23±214,1	226,20±80,60	236,47± 95,10
CCC	28,352±4,6	30,40±3,56	164,13±36,2	200,80±56,60	548,25±110,6	650,25±188,5	205,52±27,12	239,00±108,3

Tabla 2. Parámetros genéticos en la raza BON (Gallego et al., 2006), ROMO (Martínez y Pérez, 2006), y CCC (Martínez y Herazo, 2006).

Parámetros genéticos	Peso al nacimiento	Peso al destete ajustado a 240 días	Peso ajustado a los 480 días
Raza BON			
h_a^2	0,38±0,017	0,18±0,022	0,095±0,025
h_m^2	0,03±0,015	0,05±0,025	0,032±0,022
h_i^2	0,41±0,050	0,24±0,056	0,128±0,050
P^2	0,06±0,031	0,04±0,02	0,062±0,045
e^2	0,51±0,022	0,70±0,08	0,080±0,032
Raza ROMO			
h_a^2	0,25±0,001	0,34±0,063	0,330±0,066
h_m^2	0,06±0,003	0,19±0,054	0,100±0,046
ram	-0,37±0,002	-0,34±0,133	-0,050±0,021
h_r^2	0,28	0,435	0,380
P^2	0,03±0,002	0,09±0,031	0,069±0,028
e^2	0,71±0,003	0,47±0,045	0,570±0,05
Raza CCC			
h_a^2	0,17±0,001	0,21±0,074	0,172±0,001
h_m^2	0,01±0,003	0,05±0,038	0,040±0,001
h_i^2	0,17	0,235	0,192
ram	-0,89±0,003	-0,13±0,037	-0,380±0,0001
P^2	0,04±0,0001	0,04±0,029	0,001±0,0001
e^2	0,81±0,0003	0,72±0,059	0,818±0,0001

Resultados y Discusión

Mediante el uso de la metodología del modelo animal empleando el procedimiento BLUP, se realizó la predicción de los valores genéticos individuales en cada población y con esta información se graficó la distribución de estos valores para los animales de cada una de las razas y que fueron en parte utilizados para ser entregados en el Programa Nacional de Fomento de los Bovinos criollos; esta información da una idea de la variabilidad genética de las características y del potencial genético de la población dada la

proporción de individuos con valores genéticos positivos.

En la tabla 1 se muestra el comportamiento productivo de las hembras y machos que fueron seleccionados para ser entregados en el programa de fomento. Las razas Romosinuano y Costeño con cuernos (CCC) presentan los mayores pesos al nacimiento; en cuanto al peso al destete, los valores de los machos Sanmartinero son inferiores a los de las demás razas y muy similares a los pesos registrados para las hembras, igual comportamiento se nota para peso al destete. En general estos valores son similares a los reportados para estas



Figura 1. Población de hembras de la raza Blanco Orejinegro perteneciente al Banco de Germoplasma situado en la E.E. El Nus de CORPOICA ubicada en el municipio de San Roque, Antioquia.

razas (Martínez, 2001; Treviño, 2001; Pérez y Moreno, 1999).

En cuanto a los parámetros genéticos, varios autores han reportado valores de heredabilidad directa, materna, total y efecto de ambiente permanente y efecto residual. Gallego *et al.*, (2006) reportaron en la raza BON, para la característica peso al nacimiento, un valor para la heredabilidad directa de $0,38 \pm 0,017$ y la materna $0,03 \pm 0,015$, este último considerado bajo, posiblemente debido al bajo efecto del genotipo de la vaca sobre el peso del ternero. Se obtuvo un valor medio alto de para la heredabilidad total ($0,41 \pm 0,050$). La heredabilidad total para el peso al destete fue de $0,24 \pm 0,056$. Se estimó un valor de $0,18 \pm 0,022$ para la heredabilidad directa y $0,0599 \pm 0,025$ para la materna, lo que indica que el 24% de varianza fenotípica o total, se atribuye al efecto de genes de acción aditiva, 5% a los efectos genéticos maternos y el 70% restante a las variaciones genéticas no aditivas y al ambiente. Para la característica peso ajustado a los 480 días se estimaron valores bajos con heredabilidad total de $0,128 \pm 0,05$, directa de $0,095 \pm 0,0250$ y materna de $0,0329 \pm 0,022$.

Para la característica peso al nacimiento se encontró en la población Romosinuano, Martínez y Pérez (2006) han reportado valores de

heredabilidad directa de $0,25 \pm 0,001$, heredabilidad materna de $0,06 \pm 0,03$ y heredabilidad total de $0,28$, valores considerados bajos, excepto para la heredabilidad total para la cual se reporta una heredabilidad media. Para la característica PD en terneros Romosinuano se obtuvo un valor de heredabilidad directa de $0,34 \pm 0,06$, heredabilidad materna de $0,19 \pm 0,054$ y heredabilidad total de $0,43$. Para la heredabilidad materna el valor reportado es considerado bajo, lo que demuestra el poco efecto que ejercen los genes maternos sobre el PD en terneros Romosinuano, contrario a esto la heredabilidad directa y total para esta característica de crecimiento son medias mostrándonos el efecto moderado ejercido por los genes del propio animal sobre la característica en mención, La heredabilidad total estimada para el P16m en terneros Romosinuano fue de $0,38$, se encontró una heredabilidad directa de $0,33 \pm 0,06$ y una heredabilidad materna de $0,10 \pm 0,04$, inferior a la registrada para PD, esto refleja las variaciones en el potencial de producción de leche de las vacas (Plasse *et al.*, 2002). La mayoría de trabajos donde registran caracteres posdestete se realizan solamente hasta el año de edad y por esto son difíciles las comparaciones, a causa de que en el trópico, el periodo de estrés posdestete se extiende



Figura 2. Vaca de la raza Sanmartinero perteneciente al Banco de Germoplasma situado en el C.I. La Libertad de CORPOICA ubicado en el municipio de Villavicencio, Meta.

hasta el año de edad. Por eso generalmente se considera que el pesaje a 18 meses es más apropiado para el estudio de diferencias genéticas y como criterio de selección. (Plasse *et al.*, 2002)

La raza CCC presentó el menor valor de heredabilidad para peso al nacimiento ($h_i^2=0,17$), consistente con los resultados de las demás razas, con valores de correlación negativa entre efectos directos y maternos. Para el peso al destete, también presentó menores valores, comparado con las demás razas ($h_i^2=0,23$) y con un valor de heredabilidad materna baja y similar a la encontrada en la raza BON. Similarmente, en el carácter de peso a los 16 meses, también presentó valores intermedios ($h_i^2=0,19$), superior a lo encontrado en la raza BON, pero inferior a lo encontrado en la raza ROMO, con un bajo efecto materno, similar a lo encontrado para las otras razas.

En cuanto al efecto de ambiente permanente en cada una de las razas y en general para todas las características, fue bajo y varió entre 0,0012 y 0,069, ambos en el carácter peso a los 16 meses y en las

razas CCC y ROMO respectivamente. Esto indica que puede ser eliminado este efecto del modelo de análisis sin afectar de manera importante la estructura y resultados de análisis de la información.

En la tabla 3 se muestran los valores genéticos directos promedio para cada una de las poblaciones de las razas criollas que se utilizaron en el programa de fomento. Es de resaltar que en este caso sólo se computa el promedio con los valores de los animales que se utilizaron para el programa de fomento. Se puede apreciar que solamente se encuentran valores negativos para peso al nacimiento en BON y SM, y para peso al destete, solamente se registra promedios de valores genéticos negativos para hembras y machos de la raza Sanmartinero y hembras de la raza Romosinuano. Para las demás características, se tienen promedios de valores genéticos positivos en todas las razas. Esto indica una buena calidad genética de las poblaciones, para las características de peso al destete, ganancia de peso del nacimiento al destete y para el peso a los 16 meses.

En las siguientes figuras se muestra la distribución de los valores genéticos individuales en la población, organizados por sexo, por debajo

Tabla 3. Valores genéticos promedio (V.G.P.) y exactitud promedio (r_{AP}^2) para caracteres de crecimiento en hembras de cada una de las razas criollas utilizadas en programas de Fomento.

Raza	PNac.			Pdtte.			GP			P16m		
	Hembras	Machos	r_{AP}^2	Hembras	Machos	r_{AP}^2	Hembras	Machos	r_{AP}^2	Hembras	Machos	r_{AP}^2
BON	-0,270	0,110	0,67	4,000	6,878	0,56	15,030	23,894	0,52	1,580	4,716	0,49
SM	-0,324	-0,251	0,52	-8,000	-4,540	0,50	17,000	12,063	0,49			
ROMO	0,152	0,354	0,55	-1,202	1,962	0,52	3,737	6,779	0,51	0,076	0,084	0,49
CCC	0,014	0,019	0,48	0,996	2,911	0,57	4,951	12,122	0,57	1,510	2,544	0,49

del cero (0,0) se encuentran una superficie que indica la proporción (número de animales con respecto al total de animales) que presentan valores negativos y por encima de cero, la superficie indica la proporción de animales con valores genéticos positivos.

Raza Blanco Orejinegro

Como se puede apreciar para la raza Blanco Orejinegro (Figura 1) el 51% de las hembras tienen valores genéticos negativos para peso al Nacimiento, (Hembras 72/141), mientras que el

restante 49% (69/141) presentan valores genéticos positivos, similar a lo encontrado para los machos [49% negativos (51/104) y 51% de animales positivos (53/104)]

Para el peso al destete en la raza BON, ya se tiene una mayor proporción de individuos con valores genéticos positivos tanto en hembras [21% negativos (30/141) y 79% positivos 111/141] como en machos [21% negativos (22/104) y 79% positivos (82/104)] indicando que en general los animales presentan buenas posibilidades de selección para esta variable. Similar comportamiento puede ser observado para el carácter ganancia de peso, donde en las hembras se presentan 79% de individuos con



Figura 3. Toro de la raza Romosinuano perteneciente al Banco de Germoplasma situado en el C.I. Turipaná de CORPOICA ubicado en el municipio de Cereté Córdoba.



Figura 4. Toro de la raza Costeño con Cuernos perteneciente al Banco de Germoplasma situado en el C.I. Turipaná de CORPOICA ubicado en el municipio de Cereté Córdoba.

valores genéticos positivos (111/141) [21% de individuos negativos (30/141)] y 83% de los machos con valores genéticos positivos (86/104) [17% de individuos machos, con valores negativos (18/104)]

Para el peso a los 16 meses de edad se encontró que el 69% de las hembras entregadas con fines de fomento tuvieron valores genéticos positivos (97/141) y tan sólo un 31% presentaron valores negativos (44/141), similar a lo encontrado en los machos donde el 79% (82/104) de los machos seleccionados para fomento tuvieron valores genéticos superiores al promedio de la población y sólo un 21% presentaron valores inferiores (22/104). Para esta raza es muy evidente la alta proporción de individuos mejorantes tanto en machos como en hembras, lo que indica que la población seleccionada para el plan de fomento tiene una buena base genética para selección, que permitirá asegurar el progreso genético al aplicar estrategias de mejoramiento genético.

Raza Sanmartinero

En el caso de la raza Sanmartinero (Figura 2), por el peso al nacimiento, se encontró - para las hembras -

un 71% de animales con valor genético negativo (150/209) y solamente un 29% de individuos positivos (59/209) y para los machos, 72% de individuos con valores negativos (114/158) y 28% positivos (44 / 158). Similar comportamiento se pudo apreciar para el carácter peso al destete, donde para el 74% de las hembras (155/209) se estimaron valores genéticos negativos y sólo el 26% (54/209) positivos y en los machos, el 65% de individuos con valores genéticos negativos (104/158) y un 35% positivos (54 / 158)

Por el contrario, la característica peso al destete, en esta población presentó un predominio de animales con valores genéticos positivos tanto en machos como en hembras (56% positivos (115/209) y 44% negativos (94/209) y en machos 59% de animales positivos (92 / 158) y sólo 41% de animales negativos (66/158). Esto indica para esta raza, que este carácter puede constituirse en objetivo de selección, dado que muestra amplia variabilidad fenotípica y genética y que la población presenta valores genéticos promedio superiores a cero, garantizando el progreso genético que se puede obtener seleccionando por este carácter.

Raza Romosinuano

En la raza Romosinuano (Figura 3), se encontró proporciones levemente superiores de animales con valores genéticos superiores para peso al nacimiento, ya que el 55% de las hembras (73/135) presentaron valores genéticos positivos, mientras que el 45% presentaron valores negativos (62/135), y en los machos el 58% (44/76) presentaron valores positivos y sólo el 42% (32/76) negativos. Similar comportamiento se apreció para el peso al destete, donde el 55% de las hembras (73/135) y el 60% de los machos (45/76) presentaron valores genéticos positivos y para el carácter ganancia de peso al destete, donde el 57% de las hembras (76/135) y el 58% de los machos (44/76) presentaron valores genéticos positivos.

Para el Peso a los 16 meses, también se presentaron proporciones levemente superiores de animales con valores genéticos positivos, pues el 59% de las hembras (79/135) y el 57% de los machos (43/76) presentaron valores genéticos positivos. Para esta raza, se encuentra una amplia variabilidad genética y valores genéticos en promedio positivos, lo que indica la mayor posibilidad de seleccionar individuos mejorantes en la población.

Raza Costeño con cuernos

En la raza Costeño (Figura 4) solamente el carácter peso al nacimiento presentó similares proporciones de animales con valores genéticos positivos y negativos en Hembras [47% (67/140) negativos y 53% (73/140) positivos] y machos [51% (36/70) negativos y 49% (34/70) positivos], para el peso al destete, se encontró una mayor proporción de individuos con valores genéticos positivos en hembras [45% (63/140) negativos y 55% (77/140) positivos], pero superior proporción en machos con valores genéticos positivos [38% (27/70) negativos y 62% (43/70) positivos], similar a lo encontrado para la ganancia de peso al destete, donde el 58% de las hembras (80/140) presentaron valores genéticos positivos (42% (60/140) con valores genéticos negativos) y en los machos el 62% de los individuos (43/70) presentaron valores genéticos positivos. Pero el carácter peso a los 16 meses presentó una diferencia considerable, con una alta proporción de individuos con valores genéticos positivos, en este caso el 70% de las hembras (97/140) y 73% de los machos (51/70), presentaron valores genéticos positivos y complementariamente

el 30% (43/140) de las hembras y el 27% (19/70) de los machos presentaron valores genéticos negativos.

En esta población, se puede decir que al realizarse una selección de parentales, para las características de crecimiento, hay una alta proporción de individuos que pueden ser utilizados como animales mejorantes, dada la mayor proporción de individuos con valores genéticos positivos para la mayoría de caracteres. Esto también es un indicio de la amplia variabilidad genética que presenta esta raza para las variables de crecimiento, al igual que en el resto de las razas criollas analizadas. Con estas poblaciones fue iniciado un Programa Nacional de Fomento de Bovinos criollos (Anzola *et al.*, 2005) en diferentes regiones del territorio Colombiano, el cual tiene como objetivo promover la utilización de bovinos de las razas criollas, que actualmente se encuentran en amenaza de extinción y además se busca obtener información útil para implementar un plan de mejoramiento genético con miras a incrementar su capacidad productiva, y para esto se tiene como punto de partida poblaciones con suficiente variabilidad genética para los procesos de selección.

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que cada una de las razas evaluadas presenta proporciones variables de animales con valores genéticos positivos y negativos variando entre razas. La mayor proporción de individuos con valores genéticos positivos para las características de crecimiento fue la raza BON y CCC, lo que indicaría mayor potencial para selección. Además se encontraron similares proporciones de individuos con valores positivos y negativos entre machos y hembras, indicando una alta variabilidad genética sin diferencias entre sexos. Por otra parte, el carácter peso a los 16 meses presentó en general en todas las razas una alta proporción de animales con valores genéticos positivos, indicando que este puede ser el carácter con mayor potencial para tener en cuenta al iniciar un programa de mejoramiento genético. El uso de este tipo de metodologías para la evaluación de las poblaciones locales puede ser de gran utilidad para el desarrollo y la gestión genética tanto en términos de conservación como para mejoramiento, pues en el primer caso da un indicio del estado de

conservación al evaluar las tendencias en los valores de consanguinidad y parámetros genéticos, que deben mantenerse estables en el tiempo. En el caso de mejoramiento, la determinación de los valores genéticos permite aplicar procesos de selección más precisos y con resultados más predecibles. Este trabajo es un ejemplo de su aplicación en poblaciones experimentales y en programas de fomento y multiplicación de cuatro razas locales en Colombia.

Referencias

- Anzola H., Martínez R.A., Ossa G. & Neira J.** 2005. Desarrollo en Colombia de un programa nacional de fomento de bovinos criollos. Revista ICA informa, Vol. 32 No. 2: 48-53.
- Henderson C.R.** 1988, Progress in Statistical Methods applied to quantitative genetics since 1976. Ch 8. In; Weir B.S., Eisen E.J., Goodman M.M., and Namkoong G. (Eds) Proc. 2nd. Internal. Conf. On Quantitative Genetics. Sinauer Sunderland, Mass USA.
- Hernández B.G.** 1998. Estrategia Genética para Ganado Tropical de doble propósito. Boletín Técnico. Corpoica, pp. 44.
- Gallego J.L., Martínez R.S. & Moreno F.L.** 2006. Caracterización fenotípica, genética y determinación de los índices de consanguinidad de la raza criolla blanco Orejinegro en la estación experimental el Nus, 1979 – 2004. Revista Corpoica, in press.
- Martínez C.G., Frahm R.R. & Buchanan D.S.** 1994. Caracterización de la raza criolla Blanco Orejinegro (BON) IV. Heterosis del crecimiento predestete de BON, Cebu y sus cruces con Charolais y Santa Gertrudis. Rev. ICA. (Col). 29:2; 135-150.
- Martínez C.G., & Chaves M.G.** 2001. Ganado Criollo Sanmartinero, Alternativa genética sustentable para la producción bovina en la Orinoquía. Villavicencio, pp. 45.
- Martínez C.G. & González H.F.** 2000. El Ganado Criollo Sanmartinero (SM) y su potencial productivo. Animal Genetic Resource Information. FAO-UNEP, 28:7-18.
- Martínez R.A., Avila O., Pérez J., Gallego J. & Onofre H.** 2005. Estructura y función del Banco de Germoplasma in Vitro en Colombia. Archivos de Zootecnia. 54: 545-550.
- Martínez, R.A, Pérez J.E & Herazo T.** 2006. Estimation of genetic parameters and variance components for growth traits in *Costeño con cuernos* cattle in Colombian humid tropic, 8th World Congress on Animal Genetic of Livestock Production.
- Martínez, R.A & Pérez J.E.** 2007. Parámetros y tendencias genéticas para características de crecimiento en el ganado criollo colombiano romosinuano, Revista Corpoica, in press.
- Meyer K.** 1989. Approximate accuracy of genetic evaluation under an individual animal model. Livest. Prod. Sci. 221: 87.
- Misztal, I. & Wiggans G.R.** 1988. Aproximation of prediction error variances in large scale animal models. J. Dairy Sci. 72: 1557.
- Pérez, J & Moreno F.** Caracterización de la raza bovina criolla Romosinuano en CORPOICA C.I. Turipaná, 1999, <www.turipana.org.co/bovino.htm>.
- Plasse, D., O. Verde, J. Arango, L. Camaripano, H. Fossi, R. Romero, C. Rodríguez, & J.L. Rumbos.** 2002. (Co)variance components, genetic parameters and annual trends for calf weights in a Brahman herd kept on floodable savanna Genetics and Molecular Research 1 (4): 282-297.
- Telo G.L., Pereira M.C., Carolino N.** 2004, Modelos mistos em melhoramento Animal, Arquitos Veterinarios, Cyted, Portugal, pp. 275.
- Telo G.L.** 2002. Melhoramento Genético Animal. Escolar Editora, Lisboa Portugal, pp. 301.
- Triviño M.H.** 2001. La raza Romosinuano, En: Los animales domésticos criollos y colombianos en la producción pecuaria nacional. Grupo de Bioseguridad y Recursos Genéticos., Instituto Colombiano Agropecuario ICA, pp. 29-32.

Molecular characterization of two common Chadian cattle breeds

C. Flury^{1,5}, B.N.R. Ngandolo², B. Müller³, J. Zinsstag³ & H.N. Kadarmideen⁴

¹Institut of Animal Science, Swiss Federal Institute of Technology (ETH),
Universitätsstrasse 65, 8092 Zürich, Switzerland

²Laboratoire de Recherches Vétérinaires et Zootechniques de Farcha, P.O. Box 433, N'Djaména, Chad

³Swiss Tropical Institute, P.O. Box, 4002 Basel, Switzerland

⁴CSIRO Livestock Industries, JM Rendel Laboratory, P.O. Box 5545, Rockhampton, QLD 4702, Australia

⁵Present address of the corresponding author: Swiss College of Agriculture (SHL),
Länggasse 85, 3052 Zollikofen, Switzerland

Summary

In previous studies, significant differences in *Mycobacterium bovis* infection prevalence was reported between two Chadian cattle breeds. Those findings and the established differentiation due to phenotypic characteristics suggest that the two breeds (Arab and Mbororo) are genetically different. To evaluate the genetic structure and the differences between these breeds, the genetic diversity within and between breeds was evaluated based on a total of 205 multilocus genotypes (21 microsatellite loci).

All of the loci under investigation were polymorphic and the number of alleles ranged from 4 to 14 within the two populations. The analysis of population fixation resulted in a F_{ST} value of 0.006. Further the population assignment of the individual genotypes and the exact test of population differentiation did not support the hypothesis that the samples drawn from the two populations are genetically different. Population admixture and sample collection are discussed as possible reasons for the rejection of the hypothesis. Finally, recommendations for sample collection in extensive systems are given.

Resumé

Dans des études précédentes on avait observé des différences significatives dans les infections par *Mycobacterium bovis* chez les races bovines de Chadian. Ces observations et la différence due aux caractéristiques phénotypiques suggèrent que les deux races (Arabe et Mbororo) sont génétiquement différentes. Pour évaluer la structure génétique et les différences entre ces races on a évalué la diversité génétique dans et entre races sur un total de

205 génotypes multiloci (21 loci microsatélites). Tous les loci étudiés étaient polymorphiques et le nombre d'allèles allaient de 4 à 14 dans les populations. L'analyse de la fixation de la population a donné un F_{ST} de valeur 0,006. Après l'assignation des génotypes individuels à la population et le test exact de différence de la population, l'hypothèse des échantillons sortis de deux populations génétiquement différentes n'était pas correcte. Le mélange des populations et la saisie des échantillons sont étudiés comme possible cause du rejet de l'hypothèse. Pour finir, on présente une série de recommandations pour la saisie des échantillons dans des systèmes extensifs.

Resumen

En estudios anteriores se observaron diferencias significativas en infecciones prevalentemente por *Mycobacterium bovis* en dos razas bovinas de Chadian. Estos hallazgos y la diferenciación establecida debida a las características fenotípicas sugieren que las dos razas (Arabe y Mbororo) son genéticamente distintas. Para evaluar la estructura genética y las diferencias entre estas razas, se evaluaron la diversidad genética dentro y entre razas en un total de 205 genotipos multiloci (21 loci microsatélites). Todos los loci estudiados eran polimórficos y el número de alelos iba de 4 a 14 dentro de las dos poblaciones. El análisis de fijación de la población resultó en F_{ST} con valor 0,006. Tras la asignación de genotipos individuales a la población y el test exacto de diferenciación de la población quedó eliminada la hipótesis de que las muestras sacadas de las dos poblaciones eran genéticamente diferentes. La mezcla de poblaciones y la recogida de muestras se discuten como posibles

motivos que hicieron rechazar la hipótesis. Por fin, se presentan una serie de recomendaciones para la recogida de muestras en sistemas extensivos.

Key words: *Cattle breeds, Africa, Molecular characterization, Genetic diversity, Genotyping, Cluster analysis, Populations.*

Introduction

Mycobacterium bovis (*M. bovis*) is the causative agent of bovine tuberculosis (BTB). Bovine tuberculosis is a zoonotic disease and one question of interest is its importance in the human tuberculosis epidemic, fostered by HIV / AIDS in different parts of Africa (Ayele *et al.*, 2004; Cosivi *et al.*, 1998). Such investigations are extensive, as the tuberculosis epidemic and spread depend on a variety of factors such as complex interactions between different *Mycobacterium tuberculosis* complex strains, non-tuberculous Mycobacteria, susceptibility of host cattle breeds, the public health status and other environmental factors. To further investigate those complexities a large project is currently running in cooperation with Laboratoire de Recherches Vétérinaires et Zootechniques de Farcha, N'Djaména, Chad; Sokoine University of Agriculture, Morogoro, Tanzania; Laboratoire Central Vétérinaire, Bamako, Mali; Ecole Inter-Etats des Sciences et de Médecine Vétérinaires, Dakar, Senegal; the Swiss Tropical Institute (STI), Basel, Switzerland and the Swiss Federal Institute of Technology (ETH), Zürich, Switzerland.

In a previous study, differences between host cattle breeds regarding the prevalence of infections with *M. bovis* were reported (Hilty, 2006). In Chad as well as in Cameroon (Hilty, 2006), a higher prevalence in the Mbororo breed was found in comparison with the Arab breed, and the hypothesis was that the distinct prevalence might be due to a differential susceptibility in the two breeds. Further research on the susceptibility of different host breeds and the genetic diversity between these breeds are goals of the overall project. So far, the genetic characterizations of the samples collected at the slaughterhouses in Chad have been completed and are the subject of the presented study.

As compared to Europe, characterisation of animal genetic resources (AnGR) in Africa receives less attention. In the country report of Chad (FAO, 2007b), no molecular characterization of Chadian cattle breeds was reported. However, adequate characterization of AnGR is a prerequisite for

successful management programmes and for informed decision making in national livestock development (FAO, 2007a). Even if the two breeds Mbororo and Arab are not at risk of extinction (derived from FAO, 2007c) the data collected at the slaughterhouses in Chad is expected to be worthy of detailed analysis of the molecular aspects of each. The aim of this study was the molecular characterization of the two breeds including the assessment of genetic diversity within and between populations. Such a characterization is not only of interest regarding the differences in BTB prevalence in the two breeds but also in respect to the description of indigenous African cattle breeds and African cattle husbandry systems.

Material and Methods

Breeds

The genotyped animals belong to the two breeds Mbororo and Arab. All of them were kept in a long distance transhumant system by pastoralists, thereby passing the border between Chad and the Central African Republic and spending the dry season in the Central African Republic. The transhumant system is the main cattle production system in Chad. Seventy five percent of the national herds are kept by pastoralists and almost 50% of Chadian export revenues are generated within this system (FAO, 2007b).

The Mbororo cattle, also known as Red Fulani, belong to the subgroup Fulani of the West African Zebu cattle. In Chad a population size of 300 000 heads was reported in year 1992 (FAO, 2007c). This breed has long, lyre-shaped horns and a thoracic, sometimes intermediate hump (FAO, 2007c) (Figure 1). The lactation yield is poor with 2 kg of milk per day at the peak of lactation (FAO, 2007b). The carcass dressing out is low (40% - 42%), but FAO (2007b) reported the good quality of the breed's hides for leather production. The breed is robust and adapted to different climates, i.e. the breed is kept in dry as well as humid regions of Chad (FAO, 2007b).

The Arab Zebu (or Shewa) has a well developed dewlap and short horns (Zibrowski, 1997). Coat colour is red – maroon in the sahel-zone and predominantly white in the south-east and west (FAO, 2007b). Figure 2 shows some Arab animals from Chad before slaughter. Milk yield per lactation varies from a minimum of 454 kg to a maximum of 1 814 kg in a lactation length varying from 240 to 396 days (DAGRIS, 2007). Other than the entirely



Figure 1. Mbororo cattle at the slaughterhouse in Chad (photo Ngandolo B.N.R.).



Figure 2. Arab cattle at the slaughterhouse in Chad (photo Ngandolo B.N.R.).

Table 1. Age structure and average age of the sampled individuals (grouped by sex and breed).

Sampled individuals	Sex	No.	Age (mean)	Number of animals per age class (years)										
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Arab	Male	34	4.206	6	4	6	2	6	3	3	2	2	0	0
	Female	97	6.701	2	1	3	6	6	20	26	21	9	1	2
Mbororo	Male	38	3.079	2	18	7	4	4	0	2	1	0	0	0
	Female	36	5.611	1	5	3	2	2	6	9	7	1	0	0

desert regions, the breed is kept in all other regions of Chad. It is estimated, that 75% to 90% of Chadian cattle belong to this breed (FAO, 2007b). A population size of 4 902 000 heads was reported in year 1992 (FAO, 2007c).

Genotyping

Blood samples were taken from animals before slaughter at three different abattoirs in Southern Chad. Additionally, information about the breed, age, sex, transhumance system, borders crossed, residence during the dry season and the location of the slaughter house of each animal was recorded. The age structure and gender of the sampled animals are shown in table 1.

Blood was allowed to clot, transported on ice to the Laboratoire de Recherches Vétérinaires et Zootechniques in Farcha and stored at -80°C until further processing. DNA was extracted using the QIAamp[®] DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Cat. No. 51106) from clotted blood corresponding to 238 individual animals. Handling was carried out according to the Blood and Body Fluid Spin Protocol (derived from Qiagen, 2007). DNA was transported to Europe where genotyping was conducted by Van Haeringen Laboratories, Wageningen, Netherlands. All microsatellites were chosen from the FAO-list (FAO, 2004).

A remarkable degradation of the DNA was observed over time. This problem caused a high fraction of missing genotypes, especially for the most recent genotyped multiplexes. Markers for individuals with missing information for seven and more markers were omitted from further analysis. Finally, 205 genotypes (131 Arab and 74 Mbororo) for 21 microsatellites were included for statistical analysis.

Statistical analysis

For the statistical investigations the packages ARLEQUIN 3.01 (Excoffier *et al.*, 2005), STRUCTURE 2.1 (Pritchard *et al.*, 2000) and FSTAT 2.9.3.2 (Goudet, 1995) were applied. Deviation from Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE) was tested for each locus in each population using ARLEQUIN (number of steps in MCMC = 100 000). The significance level was set to P -value < 0.001 .

FAO- markers are assumed to be polymorphic, selectively neutral and to segregate independently from other loci (FAO, 2004). In ARLEQUIN a likelihood ratio test of linkage disequilibrium is implemented for genotypic data with unknown gametic phase. This test was conducted on the data setting the number of permutations to 10 000 and the significance level to 0.05.

The number of alleles per locus, the average number of alleles per breed, the observed and expected heterozygosity per locus and breed were calculated as indicators for the genetic variability within the two breeds. The relevant results were part of the testing on HWE with ARLEQUIN. Further breed specific alleles (i.e. private alleles) were counted.

FSTAT (Goudet, 1995) was used for the assessment of Wrights fixation indices and the respective standard errors. Further, the computations given in ARLEQUIN to conduct population comparisons and population differentiation were conducted. Additionally genotype assignment was derived with this package.

Clustering analysis was conducted with STRUCTURE 2.1 (Pritchard *et al.*, 2000). The length of burning period for the MCMC was set to 10 000 with 10 000 replications after burning. The number of clusters was varied from 2 to 5.

Table 2. Number of genotypes (N), number of alleles, fraction of missing genotypes observed heterozygosity, expected heterozygosity and P-value for HWE-testing for the Arab sample and the Mbororo sample, respectively.

Marker	Arab (131)					Mbororo (74)						
	No.	Alleles	Missing (%)	Obs_het	Exp_het	P-value	No.	Alleles	Missing (%)	Obs_het	Exp_het	P-value
BM1818	129	9	1.5	0.814	0.813	0.894	69	9	6.8	0.783	0.844	0.238
BM1824	131	7	0.0	0.672	0.746	0.003	74	4	0.0	0.703	0.743	0.910
BM2113	131	8	0.0	0.771	0.827	0.809	74	9	0.0	0.824	0.822	0.734
CSRM60	131	10	0.0	0.595	0.568	0.677	74	8	0.0	0.541	0.610	0.202
CSSM66	131	11	0.0	0.771	0.832	0.322	74	9	0.0	0.757	0.838	0.006
ETH10	129	8	1.5	0.798	0.769	0.382	74	8	0.0	0.797	0.803	0.237
ETH225	129	9	1.5	0.605	0.635	0.725	74	8	0.0	0.689	0.714	0.341
ETH3	131	8	0.0	0.618	0.600	0.504	74	7	0.0	0.514	0.553	0.842
HAUT27	113	7	13.7	0.664	0.744	0.374	66	7	10.8	0.727	0.746	0.797
ILSTS006	126	10	3.8	0.651	0.687	0.631	70	10	5.4	0.786	0.750	0.654
INRA23	130	12	0.8	0.708	0.745	0.526	74	10	0.0	0.595	0.665	0.281
SPS115	131	7	0.0	0.496	0.497	0.810	74	7	0.0	0.338	0.348	0.766
TGLA122	126	14	3.8	0.683	0.716	0.154	72	11	2.7	0.722	0.704	0.686
TGLA126	131	8	0.0	0.786	0.755	0.756	74	8	0.0	0.716	0.756	0.055
TGLA227	131	10	0.0	0.618	0.621	0.287	74	11	0.0	0.500	0.572	0.223
TGLA53 ¹	93	16	29.0	0.763	0.787	0.747	60	15	18.9	0.567	0.768	0.002
ETH152	131	6	0.0	0.511	0.525	0.827	73	5	1.4	0.507	0.527	0.815
ETH185	129	14	1.5	0.806	0.823	0.478	74	11	0.0	0.662	0.757	0.282
HEL5 ¹	96	7	26.7	0.573	0.770	0.000	52	6	29.7	0.500	0.751	0.000
ILSTS005	121	6	7.6	0.760	0.792	0.386	71	5	4.1	0.732	0.752	0.895
INRA32	126	10	3.8	0.714	0.826	0.033	72	10	2.7	0.806	0.815	0.949
INRA35	128	8	2.3	0.500	0.534	0.091	71	7	4.1	0.577	0.671	0.004
MM12	131	14	0.0	0.832	0.839	0.962	74	11	0.0	0.838	0.859	0.489
Mean ²		9.3		0.684	0.709			8.3		0.672	0.707	
SD ²		2.5		0.106	0.113			2.1		0.133	0.127	

¹Excluded.

²After exclusion of markers TGLA53 and HEL5.

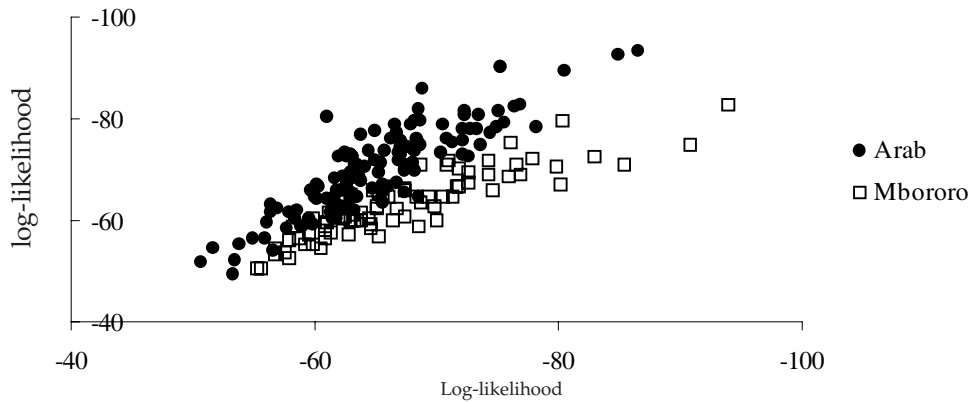


Figure 3. Log-likelihood of each individual's multilocus genotype in the population sample Arab and Mbororo, respectively, assuming that it comes from this population.

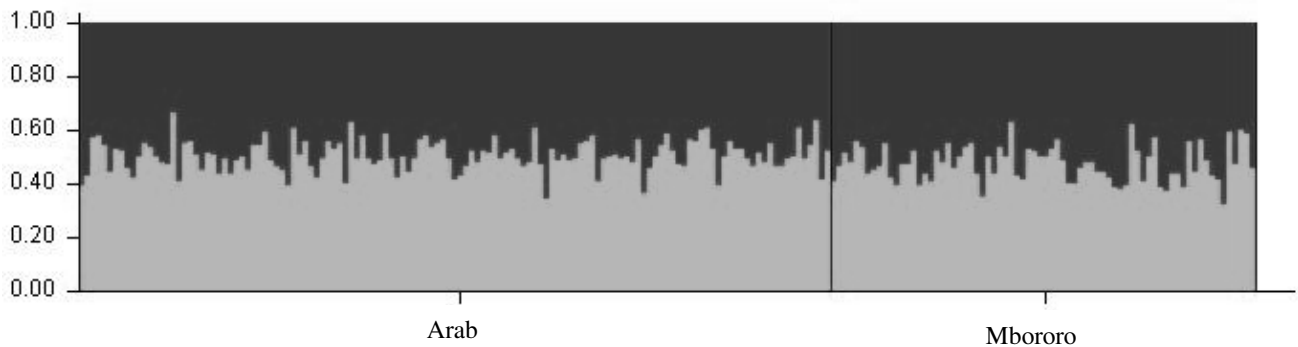


Figure 4. STRUCTURE clustering result for $k=2$ clusters.

Results

Information content of markers and genetic variability within populations

Table 2 gives an overview of the genotyped markers, the number of individuals with a genotype (N), the number of observed alleles, the fraction of animals with missing genotypes, the observed heterozygosity and the expected heterozygosity and the respective P -value for HWE-testing for the two populations, Arab and Mbororo, separately.

Genetic diversity between populations and cluster analysis

The total degree of population subdivision according to Weir and Cockerham (1984) was found to be:

$$F_{IT} = 0.042 (\pm 0.008)$$

$$F_{ST} = 0.006 (\pm 0.002)$$

$$F_{IS} = 0.037 (\pm 0.008).$$

Figure 3 shows the results for the genotype assignment implemented in ARLEQUIN. The program calculates the log-likelihood of each genotype under the assumption that it belongs to the respective population.

The results of the clustering analysis assuming two clusters, are given in figure 4. The number of clusters (k) investigated is user defined. The k resulting in the highest logarithmic probability is seen as the most probable number of subpopulations. For our data the highest log-likelihood was found for $k = 2$.

Discussion

Information content of markers and genetic variability within populations

Marker HEL5 significantly deviates from HWE and was therefore excluded from further analysis. Further, TGLA53 was omitted as its fraction of missing genotypes was above 20%. After exclusion

of the above mentioned markers, 205 individual genotypes for a total of 21 microsatellites remained for further analysis (Table 2).

Testing linkage disequilibrium revealed that for each population three pairs of loci do not segregate independently ($P < 0.001$) (results not shown). However, as all of the markers in linkage disequilibrium are mapped to different chromosomes, the markers are informative regarding diversity studies and are not excluded from further analysis (Peter, 2005).

The number of alleles per locus ranged from 4 up to 14. The minimum was found in the Mbororo sample at the loci BM1824, the maximum at the three loci TGLA122, ETH185 and MM12 of the Arab sample (table 2). These findings show that the two populations are polymorphic for all of the 21 loci under investigation. The chosen loci all fulfil the rule of thumb given by FAO, that markers for diversity studies should segregate with at least 4 alleles per population (FAO, 2004). The mean number of alleles was $9.3 (\pm 2.5)$ for the genotypes belonging to the breed Arab and $8.3 (\pm 2.1)$ for the genotypes belonging to the Mbororo breed, averaging $8.8 (\pm 2.3)$ (Table 2) for the total sample.

28 alleles at 13 loci out of the 203 alleles were found to be so called private alleles (results not shown). A private allele is defined as an allele found in one population but in no other (Woolliams and Toro, 2007). In our study the highest frequency of a private allele was 2.8% only. Thus, their influence on differences in the allelic frequencies between populations is expected to be low.

The average observed heterozygosity was found to be $0.684 (\pm 0.106)$ in the Arab and $0.672 (\pm 0.133)$ in the Mbororo populations, respectively. The average expected heterozygosity was $0.709 (\pm 0.113)$ for the Arab population, and $0.707 (\pm 0.127)$ for the Mbororo population (Table 2). The mean number of alleles per locus and the expected heterozygosity are seen as informative measures for the assessment of genetic diversity within populations (Hanotte and Jianlin, 2005; Toro and Caballero, 2004). The mean number of alleles per locus found in the present study is lower than the 11.5 alleles per microsatellite locus observed by Ibeagha-Awemu *et al.* (2004) in West/Central African cattle breeds. The expected heterozygosity for the nine *Bos indicus* breeds investigated by Ibeagha-Awemu *et al.* (2004) ranged from 0.703 – 0.744. Our estimates correspond with the lower end of this range.

Generally, it has to be questioned if the samples drawn for our study represent random samples from the Mbororo and Arab breed. The number of animals sampled is adequate, however, the animals

were all kept in one region of southern Chad and the size of the two samples was not equal. A balanced affiliation of both sexes is not given for the Arab sample (table 1). Further, the animals from a pastoralist system arriving at abattoir do not necessarily cover all age classes of a population (Table 1). For both breeds the average age of the sampled cows was about 2.5 years higher than the average age of the sampled bulls (Table 1). Considering bulls, animals from the older age classes (> 6 years) are under represented in both breeds, indicating that the majority of bulls are slaughtered at a younger age (Table 1). Older animals might have undergone selection as they had to survive the dry season, long treks, disease pressures and other forces arising within this system. Due to these various factors, the assumption of two random samples cannot be warranted.

Genetic diversity between populations and cluster analysis

The F_{ST} indicates that the genetic diversity between the two samples is very low. A high proportion of the F_{IT} is accounted for by the within-heterozygote deficiency (F_{IS}). The low F_{ST} is seen as a first incidence, and might be hard to elaborate genetic differences between the samples of Mbororo and Arab cattle.

The distributions of the log-likelihoods for the genotype assignment shown in figure 3 overlap to a certain amount. Again it is not possible to clearly distinguish between the two populations. This result was further confirmed with the exact test of population differentiation implemented in ARLEQUIN (results not shown). The differentiation test between all samples revealed in P -value > 0.05 , i.e. based on the genotypic information - the two populations do not significantly differ.

The algorithm implemented in STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000) constructs genetic clusters from a collection of individual multi-locus genotypes. Therefore the fraction of each individual's genotype that belongs to each cluster is estimated (Rosenberg *et al.*, 2001). It identifies sub-populations which differ in their allele frequencies.

The bars in figure 4 show, that for none of the 205 individuals can the genome be clearly assigned to the Arab cluster or the Mbororo cluster. Furthermore, no relation between the participation of an individual's genome fraction and its initially assigned population (x-axis in figure 4) was found.

Rosenberg *et al.* (2001) showed that the power of clustering depends on the variability of markers, the number of markers and the number of individuals genotyped. For less diverged populations they propose to genotype more than 12-15 markers for 15-20 individuals of the hypothetical populations to get accurate clustering results. For our data those recommendations are fulfilled. Therefore the clustering results further support the notion that the samples under investigation do not reflect genetically different populations.

Before slaughtering the sampled individuals were phenotypically assigned to the two breeds Mbororo and Arab. Even if relying on different individuals sampled, the reported differences in BTB prevalence between the two breeds (Hilty, 2006) leads to the hypothesis that genetic differences exist and might become obvious in investigating the molecular diversity. However, the analysis of the samples investigated here and the chosen microsatellites do not support this hypothesis. Those findings are somewhat unexpected. They might be explained with effects regarding the sampling of animals kept in transhumance systems. Unfortunately, no data about the herd affiliation was available. As already mentioned above, different age structures were observed between sexes. There is a certain chance that 'old' female individuals (5 to 8 years) are the ones that survived for example BTB infection and are therefore overrepresented in both samples. Such sampling effects can result in diminished differences between breeds.

Mbororo and Arab animals are kept by nomadic pastoralists of two different ethnic groups, where cattle breeds are named after them. This connection appears to be rather loose and both groups often keep Arab and Mbororo cattle inter-mixed in their herds (Dr. C. Diguimbaye-Djaibe and B.N.R. Ngandolo, personal communications). Another possibility is that migration of animals between herds and breeds occur. These aspects support the rejection of the hypothesis due to population admixture. Admixture between populations homogenizes allele frequencies between populations. Therefore, the exploration of differences in allele frequencies between admixed populations does not lead to significant testing results. This conclusion is further supported by the Country Report of Chad (FAO, 2007b) which records that important admixture between Arab and Mbororo exists.

Based on our study, we fully support the statement that sample collection is the most important step in any diversity study (FAO, 2007a).

In extensive production system the lack of pedigree information (Eding and Meuwissen, 2001; Ruane, 1999) may hamper the collection of representative samples. To overcome this difficulty well planned data collection and the collection of additional information like herd affiliation, records of geographical coordinates and photo documentation of sampling sites, animals and flocks. are highly recommended (FAO, 2007a). Otherwise, the interpretation of genotyping results and statistical analysis become hard and loose their explanatory power.

Conclusions

Considering phenotypes solely, one would have presumed the samples represented two different breeds. However, our study does not confirm genetic differences between the two samples. Here, the potential of genetic characterisation studies in extensive systems becomes obvious. The presented results increase information about cattle breeds kept in pastoralist systems and supports the notion that regular admixture between the two breeds occurs.

Collecting samples at slaughterhouses for semi-feral populations seems promising in comparison with the complex collection of field samples. Nevertheless, careful sample collection procedures remain the most important step. In this context the need for supplementary information (description of the breeds, herd information, information about herd management etc.) is underlined. For this purpose, the pastoralists arriving at slaughterhouse might be asked to fill in a questionnaire. Future research also requires investigations on cattle husbandry and herding practices of African pastoral communities where very little information is available. No detailed information about the influence of non-genetic factors on differences in disease prevalence (i.e. BTB) between breeds is available.

Increased information about the genetic composition of breeds as well as their production system allows for better understanding of pastoralist systems in general and of specific threats - such as zoonotic diseases - arising within such systems.

Acknowledgements

This study is part of an overall SNF project. SNF is acknowledged for financial support. Stefan Rieder

and two independent referees are acknowledged for their comments on earlier versions of this manuscript.

List of References

- Ayele, W.Y., Neill, S.D., Zinsstag, J., Weiss, M.G. & Pavlik, I.** 2004. Bovine tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 8, 924-937.
- Cosivi, O., Grange, J.M., Daborn, C.J., Raviglione, M.C., Fujikura, T., Cousins, D., Robinson, R.A., Huchzermeyer, H.F., de, K.I. & Meslin, F.X.** 1998. Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. *Emerg. Infect. Dis.* 4, 59-70.
- DAGRIS.** 2007. Domestic Animal Genetic Resources Information System (DAGRIS). J.E.O. Rege, O. Hanotte, Y. Mamo, B. Asrat and T. Dessie (Eds), <<http://dagris.ilri.cgiar.org/>>, International Livestock Research Institute, Addis Ababa, Ethiopia.
- Eding, H. & Meuwissen T.H.E.** 2001. Marker-based estimates of between and within population kinships for the conservation of genetic diversity. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 118: 141-159.
- Excoffier, L., Laval G. & Schneider S.** 2005. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis *Evolutionary Bioinformatics Online*.
- FAO.** 2007a. The state of the world's animal genetic resources for food and agriculture, B. Rischkowsky and D. Pilling (Eds), Rome, Italy, pp. 511.
- FAO.** 2007b. The state of the world's animal genetic resources for food and agriculture - annex: Country report Chad. B. Rischkowsky and D. Pilling (Eds), Rome, Italy, pp. 511.
- FAO.** 2007c. Domestic animal diversity information system (DAD-IS). <<http://dad.fao.org/>>, FAO, Rome, Italy.
- FAO.** 2004. Secondary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans, Rome, Italy, pp. 55.
- Goudet, J.** 1995. Fstat (version 1.2): A computer program to calculate f-statistics. *Journal of Heredity* 86: 485-486.
- Hanotte, O. & H. Jianlin.** 2005. Genetic characterization of livestock populations and its use in conservation decision-making. In: *The role of biotechnology for the characterization and conservation of crop, forestry, animal and fishery genetic resources.* FAO Workshop, Turin, Italy.
- Hilty, M.** 2006. Molecular epidemiology of mycobacteria: Development and refinement of innovative molecular typing tools to study mycobacterial infections, Universität Basel, Basel, Switzerland, pp. 157.
- Ibeagha-Awemu, E.M., O.C. Jann, C. Weimann, & G. Erhardt.** 2004. Genetic diversity, introgression and relationships among West/Central African cattle breeds. *Genetics Selection Evolution* 36: 673-690.
- Peter, C.** 2005. Molekulargenetische Charakterisierung von Schafrassen Europas und des Nahen Ostens auf der Basis von Mikrosatelliten, Justus-Liebig-Universität, Giessen, Germany, pp. 160.
- Pritchard, J.K., Stephens M. & Donnelly P.** 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Qiagen.** 2007. Qiagen: sample and assay technologies. <www1.qiagen.com/literature/handbooks/literature.aspx?id=1000190>.
- Rosenberg, N. A., Burke, T., Elo, K., Feldman, M.W., Freidlin, P.J., Groenen, M.A.M., Hillel, J., Mäki-Tanila, A., Tixier-Boichard, M., Vignal, A., Wimmers, K. & Weigend S.** 2001. Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds. *Genetics* 159: 699-713.
- Ruane, J.** 1999. A critical review of the value of genetic distance studies in conservation of animal genetic resources. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 116: 317-323.
- Toro, M. & Caballero.** 2004. Characterisation and conservation of genetic diversity between breeds. In: *Proceedings 55th EAAP Annual Meeting*, Bled, Slovenia.
- Weir, B. & C. Cockerham.** 1984. Estimating f-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 12.

.....

Woolliams, J. & Toro M. 2007. Chapter 3. What is genetic diversity? In: Utilisation and conservation of farm animal genetic resources. Wageningen Academic Publishers, Netherlands, 55-74.

Zibrowski, D. 1997. Atlas d'élevage du bassin du lac tschad/livestock atlas of the lake chad bassin. CIRAD-EMVT, Wageningen, Netherlands, 79-80.

.....