



ORIGEM E EVOLUÇÃO DOS BOVINOS DOMÉSTICOS

Paolo Ajmone-Marsan¹; José Fernando Garcia²

¹Istituto di Zootecnica, Università Cattolica del S: Cuore, via Emilia Parmense, 84, 29100 Piacenza, Italy, paolo.ajmone@unicatt.it . ²Universidade Estadual Paulista – UNESP, Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, R. Clóvis Pestana, 793 – Araçatuba – SP, 16050-680, Brasil, jfgarcia@terra.com.br

Resumo

A origem e evolução dos bovinos doméstico foi recentemente movida para a vanguarda da literatura científica em consideração às suas ligações com a história humana e a decisões sobre estratégias de conservação de Recursos Genéticos. O DNA de amostras modernas e antigas de *Bos* está sendo analisada para reconstruir, em cooperação com a arqueozootologia, os principais eventos e forças que deram forma à diversidade genética dos bovinos de hoje. Uma série de questões ainda permanece aberta, que esperamos serão respondidas com a ajuda das novas tecnologias e a análise combinada de dados mundiais. **Palavras chave:** Marcadores moleculares, mtDNA, biodiversidade, filogeografia, *Bos indicus*, *Bos taurus*.

Introdução

Os bovinos estão indubitavelmente entre as mais importantes espécies de animais domésticos no mundo, por isso eles estão incluídos nas “grande cinco” espécies cultivadas no mundo, juntamente com ovinos, caprinos, frangos e suínos. De acordo com a Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), o tamanho da população mundial de bovinos doméstico é de cerca de 1.4 bilhões (FAO, 2007). Essa espécie também compreende uma notável diversidade. A FAO relata a existência de 897 raças locais adaptadas a ambientes muito diferentes e difíceis, abrangendo montanhas a áreas desérticas e condições extremas em termos de umidade, temperatura e elevação (FAO, 2007).

A compreensão da domesticação dos bovinos e eventos seguintes, tem sido sempre um assunto atrativo para arqueozoologistas e geneticistas. De fato, a domesticação dos auroques deve ter sido um desafio real, dado o tamanho, força e ferocidade desses animais, que Julius Caesar nos seus registros das Guerras Gálicas (*De Bello Gallico* capítulo 6.28) definiu que *...um pouco menor que um elefante no tamanho, e de aparência, coloração e forma de um touro. Sua força e velocidade são extraordinárias; eles não excluem do ataque nem os homens nem bestas selvagens que eles tenham olhado... Mas nem mesmo quando eles são tomados muito jovens eles podem se tornar familiares aos homens e domados...* Entretanto, a domesticação bovina é um fato, e em milênios de acasalamentos seletivos o homem tem moldado os ancestrais selvagens dos bovinos, produzindo uma série de raças principalmente domadas, produtivas e altamente diferenciadas por todo o mundo.

A investigação da domesticação dos bovinos, história, demografia e diversidade têm impactos potenciais aplicativos e culturais. Por um lado, a domesticação criou um estrito legado entre os bovinos e as pessoas. Os animais domésticos se difundiram pelo mundo acompanhando as migrações humanas, conquistadores e comerciantes e a sua história fornece informação útil na história passada humana, particularmente quando faltam registros escritos, dados arqueológicos insuficientes ou ambíguos, e dados de genética humana não são conclusivos. Por outro lado, a compreensão de como diversidade dos bovinos atual tomou forma é importante para a identificação das prioridades para a conservação de Recursos Genéticos locais. O risco de extinção de várias raças locais por uma série de razões (abandono da agricultura em áreas marginais, substituição com raças cosmopolitas, “out-crossing” indiscriminado), enquanto que a conservação de um pool genético suficientemente selvagem é necessária para assegurar um suprimento de alimento adequado para as gerações futuras. A FAO (2007) registra que 209 raças de bovinos tenham se extinguido e mais de 200 enfrentarão a extinção num futuro próximo. Essa tendência de perda parecer ser particularmente forte na Europa (141 das 209 raças de bovinos extintas), possivelmente porque em países em desenvolvimento isso é pobremente documentado.

A história dos bovinos domésticos teve início há cerca de 10.000 anos atrás com a domesticação, mas antes de contar a história, nós revisamos brevemente as ferramentas de DNA utilizadas para recuperar, a partir de genomas animais, os traços deixados pelos eventos passados.

Marcadores de DNA

Diferentes classes de marcadores de DNA têm sido usadas para reconstruir a filogenia, domesticação e diversidade genética dos bovinos. As mutações do DNA mitocondrial (mtDNA) são particularmente úteis neste aspecto, dadas as características do genoma específico dessa organela. A mitocôndria está presente em múltiplas cópias no citoplasma de todas as células animais. Ela tem seu próprio DNA que é haplóide e, portanto, não sofre

recombinação. A contribuição materna e paterna do mtDNA para o zigoto é extremamente desbalanceada, com o ovo contendo milhares e o espermatozoide somente poucas mitocôndrias. Consequentemente, as mutações que ocorrem no mtDNA são clonalmente transmitidas somente através da linhagem materna: toda a progênie de uma fêmea mutada carrega a mutação e todas as progênies femininas transmitem a mutação para a geração seguinte. Mutações detectadas em mtDNA moderno definem modernos haplótipos que rastreiam para um de poucos haplótipos ancestrais comuns e, com estes, formam grupos denominados haplogrupos. Uma vez que o índice de mutação é aproximadamente constante ao longo do tempo, a divergência de mtDNA pode ser usada como um relógio molecular para datar haplogrupos. Por isso, a idade dos haplogrupos, diversidade e distribuição geográfica podem ser utilizadas para rastrear no tempo e no espaço a história evolucionária das linhagens femininas. Padrões de diversidade do mtDNA podem também ser usados para detectar e datar eventos das expansões das populações, por exemplo como consequência da domesticação. Até hoje as investigações sobre mtDNA em bovinos focaram somente umas poucas centenas de seqüências hipervariáveis de nucleotídeos chamados região de controle ou D-loop. Só existem dois exemplos de análises mais informativas e confiáveis de todos os aproximadamente 16.400 nucleotídeos na seqüência completa de mtDNA (Hiendleder *et al.*, 2007; Achilli *et al.*, 2008), agora considerado um padrão para todas as investigações de diversidade humana.

Marcadores genéticos detectam mutações no genoma nuclear. O núcleo da célula animal contém seu genoma arranjado em pares de cromossomos, um herdado do pai e o outro da mãe. Durante a formação dos gametas, os pares de cromossomos sofrem recombinação, que é o evento onde os cromossomos maternos e paternos trocam partes de seu DNA formando novas combinações de alelos que serão transmitidos para a progênie. Os marcadores genômicos são particularmente úteis para investigar intra e inter diversidade genética da raça, misturas de populações, endogamia, para classificar indivíduos para as suas raças de origem, para buscar genes importantes e na seleção genômica e assistida por marcadores.

Existem diferentes classes de marcadores nucleares. Eles diferem em abundância, informatividade, robustez e custo de análise. Suas características foram revisadas por Vignal *et al.* (2002). A maior parte dos resultados científicos produzidos em bovinos utilizaram marcadores microsatélite, repetições “tandem” de seqüências curtas (por exemplo poly AC: ACACACACACACAC) que possuem vários alelos diferindo pelo número de repetições.

Esses estão sendo presentemente substituídos por Polimorfismos de Nucleotídeos Únicos (SNP). SNPs são substituições de nucleotídeos únicos, deleções ou inserções contadas em milhões no genoma, eficiente e barato para ser analisado com as tecnologias moleculares. Com o decréscimo nos custos de seqüenciamento oferecido pelas novas tecnologias, não podemos excluir que, no futuro próximo, tecnologias de marcadores serão completadas ou mesmo substituídos por seqüenciamento direto.

Finalmente, marcadores do cromossomo Y devem ser mencionados. Nos mamíferos, o cromossomo Y controla o sexo masculino e é transmitido do pai para o filho. Mutações específicas do Y são transmitidas ao longo da linhagem masculina, similarmente ao que acontece com a transmissão das mutações do mtDNA na linhagem feminina, e podem ser usadas para investigar os mesmos eventos observados usando mtDNA, mas de uma perspectiva masculina.

Domesticação

A domesticação das plantas e animais representou um marco na história da humanidade. Ela gradualmente transformou populações migratórias de caçadores-coletores em fazendeiros com assentamentos estáveis. Seguiram-se a segurança do alimento e abundância relativa, permitindo o crescimento da população, a estratificação progressiva da sociedade, e o desenvolvimento da religião, cultura e ciência. Essencialmente, a complexa sociedade moderna não teria se desenvolvido sem o desenvolvimento da agricultura.

As primeiras evidências arqueozoológicas de bovinos doméstico em diferentes áreas geográficas datam de 8.800 a 8.300 BC (calibrado) no Crescente Fértil (Helmer *et al.*, 2005), cerca de 1500 anos mais tarde no Vale Indus, 2000 anos mais tarde na África (Meadow, 1993) e 3500 anos mais tarde no noroeste da Ásia (Payne & Hodges 1997).

Onde *Bos taurus* (taurino) e *Bos indicus* (zebu) foram domesticados? Eles foram domesticados simultaneamente ou independentemente? A arqueozoologia e a genética apontam em particular para dois centros de domesticação localizados na Ásia, onde *Bos taurus* e *Bos indicus* foram domesticados a partir do ancestral auroque (*Bos primigenius*), agora extinto, que se distribuiu do Pacífico através da Ásia e Europa para o Atlântico, e da tundra ao norte em direção ao sul para dentro da Índia e África (Zeuner, 1963).

O *Bos indicus* difere do *Bos taurus* pela presença de um proeminente cupim e pela estrutura do cromossomo Y (Goldammer *et al.*, 1997). O polimorfismo da região de controle do mtDNA reflete essa dicotomia, indicando um tempo divergente entre as duas espécies largamente pré-datando domesticação, e abrangendo 200.000-1.000.000 anos, fornecendo, portanto, a primeira evidência de dois eventos de domesticação independentes (Loftus *et al.*, 1994). Recentemente a seqüência completa do mtDNA (Hiendleder *et al.*, 2008; Achilli *et al.*, 2008) de centenas de animais confirmou essa hipótese. O *Bos indicus* “I” macro-haplogrupo diferiu do *Bos taurus* “T” macro-haplogrupo em cerca de 237 das quase 16.400 posições de nucleotídeos (Hiendleder *et al.*, 2008). Isto situa o ancestral mais recente comum entre as duas espécies em cerca de 330.000 anos de acordo com Achilli *et al.* (2008) ou mesmo 2 milhões de anos de acordo com Hiendleder *et al.* (2008) antes do presente. Portanto, parece que *Bos taurus* e *Bos*

indicus foram domesticados a partir de duas diferentes subespécies selvagens de *Bos primigenius*: *Bos primigenius taurus* no Crescente Fértil e *Bos primigenius indicus* no subcontinente indiano (Bradley *et al.*, 1996; Bradley & Magee, 2006; Hiendleder *et al.* 2008).

Domesticações secundárias aconteceram também na África e Ásia? Nenhuma dúvida parece existir de um único evento de domesticação de *Bos indicus*. Em *Bos indicus* o macro-haplogrupo “I” compreende somente duas subclasses: I1 e I2. Elas são amplamente representadas no subcontinente indiano. I1 se difundiu fora da Índia para o norte, na direção do sudeste e sudoeste da China (Lai *et al.*, 2006), enquanto I2 permaneceu confinado no sudeste da Ásia. Apesar da ampla difusão do *B. indicus* na África, até o momento foi observado que todos os bovinos africanos possuem o tipo de mtDNA “T” do *B. taurus* (Bradley *et al.*, 1996).

Inversamente existem diferentes opiniões sobre a domesticação do *Bos taurus* na África e nordeste da Ásia. No *B. taurus*, o macro-haplogrupo “T” compreende cinco subclasses: haplogrupos T, T1, T2, T3 e T4 (Troy *et al.*, 2001; Mannen *et al.*, 2004). Um sexto haplogrupo, T5, foi recentemente descoberto (Achilli *et al.*, 2008). Mutações de T5 estão fora da região de controle e permaneceram não detectadas na maior parte das investigações. Exceto para T4, todos estão presentes no centro de domesticação do Oriente Próximo. Na Europa, o T3 prevalece, enquanto que na África o T1 é de longe o mais frequente haplogrupo. O T4 é observado somente na Ásia Oriental. Com base nessas observações tem sido suposto que existem múltiplos eventos de domesticação do *B. taurus*, na África, a provável origem do T1 (Hanotte *et al.*, 2002), e na Ásia Oriental, a única área na qual o T4 foi encontrado (Mannen *et al.*, 2004).

Dados obtidos a partir do seqüenciamento completo do mtDNA não confirmam essas hipóteses (Achilli *et al.*, 2008). Esses autores chamam a atenção para a baixa divergência entre subclados “T”, 8 vezes menos que em humanos. T1, em particular, difere em somente duas mutações do ancestral de T3, e T4 parece ser um clado derivado dentro de T3. Este cenário é mais compatível com uma domesticação única do que múltipla de *Bos taurus* a partir de subespécies selvagens distintas de *B. primigenius*, que se espera ter haplogrupos de mtDNA haplogroups divergentes, como no caso de *Bos primigenius taurus* e *Bos primigenius indicus*. Entretanto, existem poucos dados sobre a divergência genética entre subespécies de auroques geograficamente separadas.

Em favor de uma diferenciação clara estão dados de DNA antigo produzidos a partir de restos coletados na Europa central e do norte (Bailey *et al.*, 1996; Troy *et al.*, 2001; Edwards *et al.*, 2007) e Iberia (Anderung *et al.*, 2005). Isso indica que auroques da Europa central e do norte têm seqüências de região de controle do mtDNA classificadas como haplogrupo “P” (depois *B. primigenius*), claramente divergente de “T” do bovinos taurino doméstico. Edwards *et al.* (2007) também encontraram o novo haplogrupo “E” (depois do sítio germânico neolítico precoce de Eilsleben) e confirmaram que ossos coletados no Oriente Próximo (Edwards *et al.*, 2007) carregavam o haplogrupo T encontrado no bovinos taurino doméstico, como esperado. Esses autores concluíram que os auroques locais europeus não deram contribuição genética para a linhagem materna de bovinos doméstico. Traços de divergência genética entre auroques do Oriente Próximo e europeus também podem ser encontrados nos bovinos domésticos. Achilli *et al.* (2008) encontraram um novo haplótipo na moderna raça Cabannina na Itália. Este, denominado Q, difere por 31 mutações de T e é um *B. primigenius* haplótipo provavelmente introgridido a partir de auroques selvagens do sul dos Alpes. A introgressão do mtDNA de auroque no bovinos doméstico foi também observado por Bollongino *et al.* (2006), que encontrou um dos haplótipos P em ossos de bovinos doméstico antigo coletados no sítio neolítico tardio de Svodin, na Eslováquia. Todos esses dados indicam uma clara divergência entre as linhagens maternas das subespécies de *Bos primigenius* a partir da Europa, Oriente Próximo e Índia. Se esse padrão também se mantém em outras áreas geográficas (por exemplo, África do Norte e nordeste da Ásia), então a hipótese de Achilli *et al.* (2008) de uma única domesticação de bovinos taurino se torna a mais provável.

Falando contra uma divergência genética entre os auroques do Oriente Próximo e europeus existem os dados de Beja-Pereira *et al.* (2006). Esses autores encontraram haplótipos T3 em restos de *B. primigenius* italiano antigo, sugerindo que auroques selvagens italianos foram homogêneos com a população auroque do Oriente Próximo, onde o T3 foi capturado durante a domesticação. Até o presente, nenhuma outra investigação confirmou essa observação. Entretanto, deve-se notar que Edwards *et al.* (2007) identificou 8 amostras européias, principalmente do neolítico precoce, classificadas como auroques pela morfologia que produziu haplótipos “T”. Em função desses resultados inesperados, os autores os consideraram como prováveis espécimes domésticos classificados erroneamente. Foram essas amostras realmente classificadas erroneamente? Qual foi a distribuição geográfica do haplogrupo T em *Bos primigenius*? Várias subespécies de auroques co-existiram na Europa? Quais haplogrupos possuíam subespécies de auroques do norte da África e nordeste da Ásia? Estas e outras questões estão aguardando uma resposta. A domesticação de *Bos taurus* foi claramente um evento complexo, mais complexo do que pensávamos até recentemente. Múltiplas domesticações podem ter ocorrido e raras introgressões secundárias de fêmeas auroques locais podem ainda ser observadas. Considerando-se que introgressões a partir de espécimes selvagens são geralmente mediadas pelo macho, este fenômeno pode ter acontecido frequentemente. De fato, Götherström *et al.* (2005) sugeriram que este foi o caso. Esses autores observaram que haplótipos do cromossomo Y de raças de bovinos do norte da Europa são mais similares a haplótipos de espécimes antigas de auroques europeus do que as raças de bovinos modernos do sul da Europa e Oriente Próximo. Portanto, muitos detalhes estão ainda faltando e investigação adicional é necessária sobre mtDNA de bovinos e a filogeografia do cromossomo Y em raças locais e restos antigos, para auxiliar na exploração de eventos passados e revelar todas as localidades e a dinâmica da domesticação do bovinos.

O legado dos ruminantes com humanos e colonização mundial

Durante os 3.000–4.000 anos que sucederam os eventos iniciais de domesticação no Crescente Fértil e no Vale Indus, a agricultura se espalhou pela Europa, África e Ásia. Evidências arqueológicas mostraram que duas principais rotas de colonização aconteceram na Europa: a rota Mediterrânea e a rota Danubiana. É provável que tenha havido um decréscimo da diversidade genética durante esse processo de colonização na Europa. De fato, populações do oeste europeu exibiram menor polimorfismo de DNA genômico e mitocondrial do que aqueles do Oriente Próximo (Medjugorac *et al.*, 1994; Troy *et al.*, 2001; Bradley & Magee, 2006). Esses resultados suportam o modelo de difusão demica proposto por Ammerman e Cavalli-Sforza (1984). Esse modelo indica a migração e colonização como condutores da expansão da agricultura, ao invés de transmissão cultural. De acordo com isso, fazendeiros localizados na borda do círculo de expansão se mudam, após a expansão demográfica, levando com eles o chamado “pacote Neolítico” consistindo de ferramentas, conhecimento, sementes e animais domesticados. Neste processo, somente parte do pool genético existente é passado para os próximos sítios, produzindo um gradiente decrescente de diversidade genética se movendo para fora do centro de domesticação.

Uma série de migrações pecuárias secundárias acompanhou as migrações humanas em tempos históricos mais recentes e contribuíram para moldar os pools de genes locais. Por exemplo, a introgressão do pool genético africano é observado em raças de bovinos ibéricas (Cymbron *et al.*, 1999; Miretti *et al.*, 2004; Anderung *et al.*, 2005; Beja-Pereira *et al.*, 2006), ligado ou com a ocupação moura, ou mesmo com eventos anteriores, ou com uma introgressão a partir de auroques locais (Beja-Pereira *et al.*, 2006).

B. taurus e *B. indicus* se inter cruzam completamente e uma extensiva hibridização entre essas duas espécies de bovinos tem sido observada na África (Bradley *et al.* 1996), Oriente Médio (Edwards *et al.*, 1997b; Achilli *et al.*, 2008) e América do Sul (Magee *et al.*, 2002), de tal forma que nessas regiões animais zebuínos freqüentemente possuem mtDNA taurino (na África, sempre) e na América Próxima e do Sul também o oposto (taurinos com mtDNA zebuino).

Na África, representações pictóricas e restos arqueológicos indicam que os bovinos africanos mais antigo eram *B. taurus* sem cupim (Hassan, 2000) e *B. indicus* com cupim, provavelmente originados no segundo milênio BC (Marshall, 2000). Hoje várias raças africanas têm significante ancestralidade zebu, com tipos zebus e formas intermediárias, freqüentemente referidas como “sanga”, predominantemente nas zonas áridas da África oriental e ocidental. Por outro lado, populações taurinas são encontradas em regiões mais tropicais no oeste, leste e sul da África. A influência Zebu na África é claramente uma introgressão mediada pelo macho, em vez de uma substituição, uma vez que todos os taurinos africanos e raças zebu compartilham o mesmo conjunto de haplótipos de mtDNA taurino (Troy *et al.*, 2001). Interessantemente, o nível de introgressão zebu diminui do leste para o oeste e cai para quase zero em áreas subtropicais endêmicas da **trypanosomíase, doença** transmitida pela mosca tsé-tsé para a qual o zebu não tem resistência inata (MacHugh *et al.*, 1997).

Dados moleculares de bovinos asiáticos são menos abundantes e mais fragmentados. No nordeste da Ásia (Mongólia, norte da China, Coreia e Japão), a maior parte dos bovinos não possui cupim e são classificados como *Bos taurus* (Phillips, 1961). O bovino doméstico mais antigo foi provavelmente deste tipo e apareceu entre 3.000 end 2.000 anos AC, vários milhares de anos após a primária domesticação de auroques na Ásia Ocidental (Payne & Hodges, 1997). Em torno do segundo século AD, o bovino migrou do norte da China, via península coreana, para o Japão.

A variação na sequência de mtDNA e frequência dos haplótipos *Bos taurus* e *Bos indicus* foram examinadas em bovinos nativo da Índia, Filipinas, Nepal, Japão, Mongólia, Coreia e China (Mannen *et al.*, 2004; Lai *et al.*, 2005). Haplótipos *B. indicus* foram primariamente encontrados na Índia e Filipinas. As suas frequências diminuem um pouco abaixo de 50% no Nepal, sul e sudoeste da China e China central, enquanto são raros no noroeste e oeste da China e Mongólia. Após a domesticação inicial na Índia, o bovino *Bos indicus* foi gradualmente introduzido na China. O sul e sudoeste da China, que é geograficamente mais próximo do sul da Ásia, e recebeu mais contribuição do *B. indicus* do que em outras partes da China. Interessantemente, somente o mais recente haplogrupo I1 parece ter se mudado para fora do sul da Ásia, confirmando que a colonização do zebu no norte da Ásia foi mais recente.

Somente haplótipos taurinos foram encontrados no mtDNA em *B. taurus* coreano e japonês. As sequências taurinas asiáticas se dividem em quatro haplogrupos distribuídos geograficamente (T, T2, T3 e T4), com o T2 Oriente Próximo freqüente no noroeste e oeste da China e Mongólia, devido à proximidade geográfica e histórica, e T4 freqüente no Extremo Oriente.

Ocasionalmente, introgressão secundária foi observada a partir de outras espécies *Bos*, como por exemplo, relatado por Yu *et al.* (1999) que revelou introgressão de mtDNA a partir de yak (*Bos grunniens*) para uma raça de bovinos originária de Diqing, Província de Yunnan.

Viagens e cruzadas pós-domesticação bovina

As migrações bovinas têm sido diretamente ligadas a migrações humanas pós-neolíticas. Este é o caso na África, onde a diversidade microsatélite relacionou a dispersão do bovinos com a origem e dispersão precoce do

pastoralismo africano (Hanotte *et al.*, 2002). Nessa investigação uma análise multivariada de diversidade genética, tal como avaliada por 15 microsátélites em 50 raças de 23 países, identificou componentes significantes. O primeiro e principal componente se correlacionou muito bem com as introgressões secundárias do zebu da Ásia. Dados interessantes sugerem que a introgressão ocorreu por intermédio do Chifre e costa leste da África ao invés da conexão terrestre entre o Egito e Oriente Próximo, como esperado. Os autores sugerem que isso possa ser o resultado das migrações arábicas para o norte e leste da África, se iniciando a partir de 700 AD, ou a indicação do antigo comércio de longa distância no Oceano Índico entre a Índia e o leste da África, incluindo Madagascar. Este comércio aparentemente deixou traços biológicos tanto na África quanto na Índia. O segundo componente não se correlacionou com a introgressão zebu e foi interpretado como o mais antigo componente de variação do *B. taurus* africano. Isso indica a dispersão do antigo pastoralismo africano do Sahara Oriental, por duas rotas, uma direcionada para o oeste e a outra para o sul. Dados indicam que a transferência do pastoralismo dos bovinos para o sul da África ocorreu através da parte oriental do continente, e não ao longo da rota ocidental, como proposto anteriormente (Denbow, 1990). O terceiro componente se correlacionou com uma influência *Bos taurus* secundária da Europa e Oriente Próximo.

Outro caso interessante de ligação entre os bovinos e a história da humanidade se encontra na Itália, datada da era do bronze, onde a demonstração da migração dos bovinos rastreou a origem da civilização etrusca. Essa civilização surgiu na Itália no primeiro milênio AC e por séculos dominou parte da península da Itália, incluindo Roma. Pellecchia *et al.* (2007) encontrou uma inesperada explosão de diversidade de mtDNA na Itália central em comparação com o norte e sul da Itália e Europa central. A análise da diversidade genética indicou que quatro raças históricas da Itália central possuíam todos os haplótipos encontrados no centro de domesticação e foram geneticamente mais próximos das raças do Oriente Próximo do que às raças ao redor do sudeste e nordeste da Itália. Este padrão sugere a migração secundária pós-domesticação do Oriente Próximo para a Itália por intermédio da rota do oceano. A partir de registros históricos e dados de mtDNA, os autores foram capazes de datar aproximadamente os eventos de migração entre o segundo milênio e o primeiro século AC, e correlacionar o evento com o início da cultura etrusca, ancorada no final da idade do Bronze para a costa de Tuscany (Itália central) do Oriente Próximo conforme indicado pelos historiadores clássicos Herodotus e Thucydides.

Uma cruzada bovina mais recente, seguindo a migração humana, ocorreu da península ibérica e norte da África para as Américas, quando os conquistadores europeus viajaram para as Américas por glória e ouro e comercializaram escravos africanos. Diversas populações de bovinos nas Américas (conhecidas como raças *Criollo* ou *Crioulas*) descendem de alguns dos primeiros animais introduzidos no continente no início do período colonial (séculos 16 e 17). Essas raças constituem recursos genéticos potencialmente importantes, uma vez que elas estão agora bem adaptadas a ambientes locais e possuem considerável diversidade fenotípica (Carvajal-Carmona *et al.*, 2003).

Existem três principais rotas históricas da colonização dos bovinos nas Américas. A primeira liga a Espanha e norte da África ao Caribe. A segunda vai de Portugal a São Paulo (São Vicente) e testemunhou a chegada das primeiras cabeças bovinas no Brasil. A última liga o norte da Europa ao norte da América e foi percorrida durante o processo de colonização Anglo-Saxão, principalmente no século 17.

Para investigar a origem dos bovinos da América do Sul é preciso confiar em fontes de informação muito antigas, dispersas e imprecisas. As principais são as “Cédulas Reales” (documentos oficiais espanhóis) com mais de 400 anos, o “Archivo General de Indias de Sevilla” e os relatos dos conquistadores a respeito dos eventos ocorridos durante a descoberta, conquista e colonização da região sul do continente americano. Entretanto, esses registros históricos são algumas vezes pobres de informação sobre bovinos, o que não era um tópico importante naquele período de intensa descoberta e excitação (Ortiz, 1999).

O primeiro embarque de bovinos para o Novo Mundo ocorreu durante a segunda viagem de Colombo (Cadiz, 25 de setembro de 1493). Devido a problemas de espaço naqueles navios pequenos, os bovinos eram pequenos bezerros acompanhados por porcos e ovelhas. A expedição chegou na ilha de Santo Domingo, chamada por Colombo “La Española”. Em geral, a introdução dos bovinos no “Novo Mundo Espanhol” foi muito lenta e bastante difícil devido a diferentes fatores, notavelmente pela dificuldade implícita em oferecer saúde e nutrição apropriadas para os jovens bezerros e a quase impossibilidade de manejar e alimentar animais adultos naqueles barcos tão rudimentares. Devido a essas circunstâncias o governador de “La Española” proibiu a saída deste tipo de bovinos da ilha para outras regiões das Antilhas ou do continente, indicando o claro objetivo de ter recursos exclusivos no comércio de bovinos nas ilhas do Caribe e entre estas e o continente. Essa medida era tão rígida e rigorosamente cumprida que em 1509, quando se decidiu povoar a ilha da Jamaica com animais domésticos, somente cavalos e porcos poderiam deixar “La Española”, mas não bovinos.

Após a primeira expedição de Colombo, o embarque de bovinos para a América foi feito principalmente por Sevilha, embora também Cadiz ou outros portos da Andalusia tenham sido esporadicamente portos de exportação de animais. Raças da Andalusia têm servido como base única para a formação de raças *criollo*. Santo Domingo era o ponto de partida para a distribuição de bovinos para as Antilhas e o continente no período após o segundo quarto do século 16. A expansão em direção ao continente foi bastante atrasada, devido à proibição da exportação de bovinos, possivelmente causando a mais efetiva medida contra o despovoamento da ilha. Somente 30 anos após a segunda expedição de Colombo, é que a expansão dos bovinos para fora de “La Española” começou. Naquele tempo era mais

fácil obter autorização da Coroa Espanhola para levar bovinos e outros animais domésticos para Santa Marta, atualmente na Colômbia. Este foi o primeiro registro histórico da chegada autêntica e bem sucedida de bovinos do Caribe para a região ocidental da América do Sul. Após esse evento, em 1524, e durante os próximos 50 anos, bovinos foram introduzidos na Venezuela e Panamá, e mais tarde no Peru, Chile, Paraguai, Argentina e Uruguai (Ortiz, 1999).

Revisando a história da colonização espanhola no Uruguai, Barrán (2008) nos fornece uma boa idéia de como os bovinos se adaptaram às regiões centrais e sul da América Latina: *...A chegada dos europeus, e os bovinos e equinos por eles deixados no início do século XVII no território uruguaio, modificaram o habitat, a demografia e os hábitos dos nativos. Tornados hábeis cavaleiros e caçadores de vacas, os nativos acabaram dizimados pela varíola e perseguição do homem branco, uma vez que a cultura deles os transformou em hostis para as formas de trabalho trazidas pelos conquistadores espanhóis....*

A análise do mtDNA analysis das populações de bovinos nativas da América do Sul e Caribe mostrou que o haplogrupo mais comum foi o T3 (64%), o mais prevalente na Europa ocidental, seguido pelo africano T1 (32%) e pelo T2 (4%). Haplótipos afro-derivados (pertencentes ao haplogrupo T1) podem ter sido introduzidos na América quer a partir da Ibéria ou por importação direta da África (Magee *et al.*, 2002; Miretti *et al.*, 2004). Para investigar mais profundamente a origem dos haplótipos T1 americanos, Lirón *et al.* (2006) propuseram a subdivisão dos haplótipos T1 em dois grupos, o sub-haplogrupo monofilético T1a e todos os haplótipos remanescentes, coletivamente indicados como T1*. Interessantemente, na Europa o T1* é encontrado em raças portuguesas e não em raças espanholas, enquanto que na América estão presentes nos bovinos Crioulos da Argentina, Bolívia e Colômbia, todas colônias antigas espanholas. Na Europa, T1a é encontrada somente na raça espanhola Retinta (Miretti *et al.*, 2004) enquanto na América no Brasil e ilhas caribenhas não espanholas. Para explicar esse padrão inesperado, Lirón *et al.* (2006) sugeriu a introgressão dos haplótipos africanos diretamente a partir de algum lugar no continente africano durante o comércio de escravos, ao invés da península ibérica. Embora faça sentido, esta hipótese necessita confirmação, uma vez que o haplogrupo T1a nunca foi observado na África. A amostragem mais excessiva na América e África parece ser necessária, particularmente em países iniciando pontos de rotas de comércio de escravos.

Outra história recente de bovinos sendo transportados para as Américas diz respeito à introdução do zebu no Brasil. Raças Zebuínas começaram a entrar no Brasil no século 19, embora as importações com o objetivo intencional de melhorar a genética de rebanhos nacionais começaram somente após a segunda metade do século. Atualmente, o Brasil possui a maior população mundial de bovinos comerciais (200 milhões de cabeças), com a maioria dos bovinos de corte representada pela raça Nelore. Outras raças de bovinos podem ser classificadas de acordo com a sua origem, como exóticas ou Crioulas. Raças exóticas importadas durante os últimos 100 anos incluem tanto animais zebuínos quanto taurinos e atualmente compõem a maior parte dessa população intensamente gerida. Raças Crioulas localmente adaptadas originadas de bovinos introduzidos pelos conquistadores europeus subsequentemente são forjadas pela seleção natural e mistura com outras raças importadas. Enquanto o conhecimento histórico existe sobre as raças brasileiras crioulas, pouco se sabe ainda sobre a sua composição genética (Egito *et al.*, 2007).

Os bovinos crioulos latino americanos provavelmente detêm um insubstituível e ainda inexplorado e subexplorado pool genético para a adaptação às condições climáticas e de criação da América Latina, adaptação alcançada em 500 anos de seleção natural e humana (Primo, 1992).

Conclusões

Embora informações sobre a diversidade de DNA de bovinos estejam se acumulando num ritmo crescente, muitas questões permanecem ainda em aberto, abrangendo desde o número e sítios de eventos de domesticação (são eles realmente dois ou existem mais? Onde? Na África? Na Ásia Ocidental?), até o tempo e rotas de expansão (por rota terrestre ou oceânica?) e a origem dos traços genéticos que nós agora tentamos interpretar (qual é a contribuição relativa da migração e comércio? Como o isolamento pela distância afeta o padrão que nós observamos e interpretamos como migração?). Em adição, uma característica freqüente dos estudos de biodiversidade baseados no DNA de animais de produção é a sua fragmentação. Várias investigações estão focadas em questões locais e na investigação e comparação de poucas raças num único país ou numa região limitada (veja Baumung *et al.*, 2004 para uma pesquisa). São poucas as investigações em nível continental, e ainda está faltando uma estimativa global da diversidade pecuária. Enquanto no caso das seqüências de mtDNA, um conjunto de dados global pode ser reconstruído a partir de informações depositadas em bancos de dados, este exercício não é possível com marcadores nucleares, tais como microsatélites. Inversamente, dados globais de DNA fornecerão dicas interessantes na domesticação e história das espécies de animais de criação, e indiretamente, da história da humanidade elucidando a migração pós-domesticação e rotas comerciais que homens e animais percorreram juntos. Dados moleculares mundiais também forneceriam informação útil para as decisões de conservação, uma vez que a conservação da biodiversidade, embora gerida localmente, é uma questão global que interessa toda a humanidade.

O projeto EU GLOBALDIV (*A global view of livestock biodiversity and conservation* - www.globaldiv.eu), financiado nos moldes da ação GENRES europeia, tem entre os seus objetivos analisar dados sobre marcadores de DNA produzidos por projetos independentes em larga escala numa meta-análise, para se ter um idéia da diversidade

global. Métodos estatísticos para realizar essa tarefa têm sido propostos e testados (Freeman *et al.*, 2006), embora eles necessitem melhorias e validação adicional.

O projeto visa também trabalhar para reduzir a fragmentação dos futuros estudos de biodiversidade, pelo fornecimento de orientações e padrões para aproveitamento de tecnologias recentes e já estabelecidas (alta taxa de produção SNPs e sequenciamento) para investigar a biodiversidade evitando determinado viés. De fato, tecnologias emergentes têm um grande potencial para a investigação do genoma humano, entretanto somente poucos estudos com o uso de grandes painéis de SNP para caracterizar o genoma bovino foram publicados, abordando o nível de vinculação de desequilíbrio em raças de bovinos (Gautier *et al.*, 2007; McKay *et al.*, 2008) mas nenhum abordando questões de diversidade até o momento.

Espera-se que uma grande quantidade de informação genômica se torne disponível no futuro próximo. O projeto do HapMap bovino tem descoberto milhões de SNPs putativos no genoma bovino e validado dezenas de milhares em várias raças. Esses dados irão aparecer em breve na literatura e ensaios já estão disponíveis para análises em laboratório ou terceirização. Em adição a aplicações práticas em seleção assistida de genes e vasta seleção do genoma, dados genômicos fornecerão informação inestimável para a investigação da história evolucionária da pecuária e adaptação à vasta gama de ambientes nos quais os animais domésticos são criados atualmente, proporcionando subsistência, segurança alimentar e lazer para a humanidade.

Referências

- Achilli A *et al.* Mitochondrial Genomes of Extinct Aurochs Survive in Domestic Cattle. *Curr Biol* 2008;18:157-8.
- Ammerman AJ & Cavalli-Sforza LL. The Neolithic Transition and the Genetics of Populations in Europe. Princeton: Princeton Univ Press, 1984.
- Anderung C, Bouwman A, Persson P, Carretero JM, Ortega AI, Elburg R, Smith C, Arsuaga JL, Ellegren H, Götherström A. Prehistoric contacts over the Straits of Gibraltar indicated by genetic analysis of Iberian Bronze Age cattle. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:8431-5.
- Bailey JF, Richards MB, Macaulay VA, Colson IB, James IT, Bradley DG, Hedges RE, Sykes BC. Ancient DNA suggests a recent expansion of European cattle from a diverse wild progenitor species. *Proc Biol Sci* 1996;263:1467-73.
- Barrán J. P. In <http://www.rau.edu.uy/uruguay/historia/Uy.hist1.htm>, 2008.
- Baumung R, Simianer H, Hoffmann I. Genetic diversity studies in farm animals – a survey. *J Anim Breed Genet* 2004;121:361–373.
- Beja-Pereira A, *et al.* The origin of European cattle: evidence from modern and ancient DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:8113-18.
- Bollongino R, Edwards CJ, Alt KW, Burger J, Bradley DG. Early history of European domestic cattle as revealed by ancient DNA. *Biol Lett* 2006;2:155-9.
- Bradley DG, MacHugh DE, Cunningham P, Loftus R. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:5131-35.
- Bradley DG, Magee DA Genetics and origins of domestic cattle. In: Zeder MA, Bradley DG, Emshwiller E, Smith BD (eds.). *Documenting Domestication. New Genetic and Archaeological Paradigms* Berkeley: University of California Press, 2006.
- Carvajal-Carmona LG, Bermudez N, Olivera-Angel M, Estrada L, Ossa J, Bedoya G, Ruiz-Linares A. Abundant mtDNA Diversity and Ancestral Admixture in Colombian *criollo* Cattle (*Bos taurus taurus*). *Genetics* 2003, 165: 1457–1463.
- Cymbron T, Loftus RT, Malheiro MI, Bradley DG. Mitochondrial sequence variation suggests an African influence in Portuguese cattle. *Proc Biol Sci* 1999;266:597-603.
- Denbow J. Congo to Kalahari: data and hypotheses about the political economy of the western stream of the Early Iron Age. *Afr Archaeol Rev* 1990;8:139-175.
- Edwards *et al.* Mitochondrial DNA analysis shows a Near Eastern Neolithic origin for domestic cattle and no indication of domestication of European aurochs. *Proc Biol Sci* 2007;274:1377-85.
- Egito AA, Paiva SR, Albuquerque MS, Mariante M, Almeida LD, Castro SR, Grattapaglia D. Microsatellite based genetic diversity and relationships among ten Creole and commercial cattle breeds raised in Brazil. *BMC Genetics* 2007, 8:83.
- FAO. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome: FAO, 2007.
- Freeman AR, Bradley DG, Nagda S, Gibson JP, Hanotte O. Combination of multiple microsatellite data sets to investigate genetic diversity and admixture of domestic cattle. *Anim Genet* 2006;37:1-9.
- Gautier M, Faraut T, Moazami-Goudarzi K, Navratil V, Foglio M, Grohs C, Boland A, Garnier JG, Boichard D, Lathrop GM, Gut IG, Eggen A. Genetic and haplotypic structure in 14 European and African cattle breeds. *Genetics* 2007;177:1059-70.
- Goldammer T, Brunner RM, Schwerin M. Comparative analysis of Y chromosome structure in *Bos taurus* and *B. indicus* by FISH using region-specific, microdissected, and locus-specific DNA probes. *Cytogenet Cell Genet* 1997;77:238-41.

- Götherström A, Anderung C, Hellborg L, Elburg R, Smith C, Bradley DG, Ellegren H. Cattle domestication in the Near East was followed by hybridization with aurochs bulls in Europe. *Proc Biol Sci* 2005;272:2345-50.
- Grigson C- The craniology and relationships of four species of Bos. 5. *Bos indicus* L. *J Archaeol Sci* 1980;7:3-32.
- Hanotte O, Bradley DG, Ochieng JW, Verjee Y, Hill EW, Rege JE. African Pastoralism: Genetic Imprints of Origins and Migrations. *Science* 2002;296:336-9.
- Hassan FA. Climate and cattle in North Africa: a first approximation. In: Blench RM, MacDonald KC (eds.). *Livestock: Archaeology, Genetics, Linguistics and Ethnography*. London: UCL Press, 2000.
- Helmer D, Gourichon L, Monchot H, Peters J, Segui MS. Identifying early domestic cattle from pre-pottery Neolithic sites on the Middle Euphrates using sexual dimorphism. In: Vigne JD, Peters J, Helmer D (eds.). *The First Steps of Animal Domestication. New Archaeological Approaches*. Oxford: Oxbow Books, 2005.
- Hiendleder S, Lewalski H, Janke A. Complete mitochondrial genomes of *Bos taurus* and *Bos indicus* provide new insights into intra-species variation, taxonomy and domestication. *Cytogenet Genome Res* 2007;120:150-6.
- Lai SJ, Liu YP, Liu YX, Lia XW, Yao YG. Genetic diversity and origin of Chinese cattle revealed by mtDNA D-loop sequence variation. *Mol Phylogenet Evol* 2006;38:146-54.
- Lirón JP, Bravi CM, Miról PM, Peral-García P, Giovambattista G. African matrilineages in American Creole cattle: evidence of two independent continental sources. *Animal Genetics*, 2006, 37, 379– 382.
- Loftus RT, MacHugh DE, Bradley DG, Sharp PM, Cunningham P. Evidence for two independent domestications of cattle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:2757-61.
- MacHugh DE, Shriver MD, Loftus RT, Cunningham P, Bradley DG. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics* 1997;146:1071-86.
- Magee DA, Meghan C, Harrison S, Troy CS, Cymbron T, Gaillard C, Morrow A, Maillard JC, Bradley DG. A partial African ancestry for the creole cattle populations of the Caribbean. *J Hered* 2002;93:429-432.
- Mannen H, Kohno M, Nagata Y, Tsuji S, Bradley DG, Yeo JS, Nyamsamba D, Zagdsuren Y, Yokohama M, Nomura K, Amanf T. Independent mitochondrial origin and historical genetic differentiation in North Eastern Asian cattle. *Mol Phylogenet Evol* 2004;32:539-44.
- Marshall F. The origins and spread of domestic animals in East Africa. In: Blench RM, MacDonald KC (eds.). *Livestock: Archaeology, Genetics, Linguistics and Ethnography*. London: UCL Press, 2000.
- McKay SD, *et al.* An assessment of population structure in eight breeds of cattle using a whole genome SNP panel. *BMC Genet* 2008;9:37.
- Medjugorac I, Kustermann W, Lazar P, Russ I, Pirchner F. Marker-derived phylogeny of European cattle supports demic expansion of agriculture. *Anim Genet* 1994;Suppl 1:19-27.
- Meadow A. Animal domestication in the Middle East: a revised view from the Eastern margin. In G. Possehl (eds.). *Harappan Civilization*. New Dehli: Oxford and IBH, 1993.
- Miretti MM, Dunner S, Naves M, Contel EP, Ferro JA. Predominant African-Derived mtDNA in Caribbean and Brazilian Creole Cattle is also Found in Spanish Cattle (*Bos taurus*). *J Hered* 2004;95:450-3.
- Ortiz MB. In: <http://www.racve.es/actividades/historia-veterinaria/1999-12-15ManuelBetetaOrtiz.htm>, 1999.
- Payne WJA, Hodges J. *Tropical Cattle, Origins, Breeds and Breeding Policies*. Oxford: Blackwell Science Ltd, 1997.
- Phillips W. World distribution of the major types of cattle. *J Hered* 1961;52:207-13.
- Primo AT. The Iberic Cattle In The Americas: 500 Years Later *Arch. Zootec.* 199, 41 (extra): 421-432.
- Santiago A.A. *A EPOPÉIA DO ZEBU. A seleção das raças: Gir, Guzará, Nelore, Indubrasil e Sindi*, São Paulo - Brasil, Empresa Gráfica Carioca S/A, 1960
- Troy CS, MacHugh DE, Bailey JF, Magee DA, Loftus RT, Cunningham P, Chamberlain AT, Sykes BC, Bradley DG. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* 2001;410:1088-91.
- Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet Sel Evol* 2002;34:275-305.
- Yu Y, Nie L, He ZQ, Wen JK, Jian CS, Zhang YP. Mitochondrial DNA variation in cattle of south China: origin and introgression. *Anim Genet* 1999;30:245-50.
- Zeuner FE. *A History of Domesticated Animals*. London: Hutchison, 1963.

ORIGIN AND EVOLUTION OF DOMESTIC CATTLE

Paolo Ajmone-Marsan¹; José Fernando Garcia²

¹Istituto di Zootecnica, Università Cattolica del S: Cuore, via Emilia Parmense, 84, 29100 Piacenza, Italy, paolo.ajmone@unicatt.it. ²Universidade Estadual Paulista – UNESP, Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, R. Clóvis Pestana, 793 – Araçatuba – SP, 16050-680, Brazil, jfgarcia@terra.com.br

Abstract

The origin and evolution of domestic cattle have recently moved to the forefront of the scientific literature in consideration of their links to human history and to decisions on Genetic Resources conservation strategies. DNA from modern and ancient *Bos* samples is being analysed to reconstruct, in cooperation with archaeozoology, the main events and forces that shaped nowadays cattle genetic diversity. Still, a number of open questions remain, that hopefully will be answered with the help of new technologies and the combined analysis of worldwide data. **Key words:** Molecular markers, mtDNA, biodiversity, phylogeography, *Bos indicus*, *Bos taurus*.

Introduction

Cattle are undoubtedly among the most important farm animal species in the world, so that they are included in the “big five” species reared worldwide, together with sheep, goats, chicken and pigs. According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), the world population size of domestic cattle is about 1.4 billion (FAO, 2007). This species also comprise a remarkable diversity. FAO reports the existence of 897 local breeds adapted to very different and harsh environments, spanning mountain to desert areas and extreme conditions in terms of humidity, temperature and elevation (FAO, 2007).

The understanding of cattle domestication, and following events, has always been an attractive issue for archaeozoologists and geneticists. Indeed auroch domestication must have been a real challenge, given the size, strength and fierce of these animals, that Julius Caesar in his records of the Gallic Wars (*De Bello Gallico* chapter 6.28) defined as *...a little below the elephant in size, and of the appearance, colour, and shape of a bull. Their strength and speed are extraordinary; they spare neither man nor wild beast which they have espied...But not even when taken very young can they be rendered familiar to men and tamed....* However, bovine domestication is a fact, and in millennia of selective breeding man has shaped the cattle wild ancestors, producing a number of mostly tame, productive and highly differentiated breeds spread all over the world.

The investigation of cattle domestication, history, demography, and diversity have cultural and applicative potential impacts. On the one side, domestication created a strict legacy between cattle and people. Domestic animals diffused in the world accompanying human migrations, conquers and trading and their history provides useful information on human past history, particularly when written records are missing, archaeological data insufficient or ambiguous, and human genetics data not conclusive. On the other side, understanding how present day cattle diversity has taken shape is important for the identification of priorities for conservation of local Genetic Resources. Many local breeds risk extinction for a number of reasons (abandonment of agriculture in marginal areas, substitution with cosmopolitan breeds, indiscriminate out-crossing), while the conservation of a sufficiently wide gene pool is necessary to secure adequate food supply to next generations. FAO (2007) reports that 209 cattle breeds have become extinct and more than 200 will be facing extinction in the near future. This trend of loss appears particularly strong in Europe (141 of the 209 extinct cattle breeds), possibly because it remains poorly documented in developing countries.

Domestic cattle history started some 10,000 years ago with domestication, but before telling this story, we shortly review DNA tools used to retrieve from animal genomes the traces left by past events.

DNA markers

Different classes of DNA markers have been used to reconstruct the phylogeny, domestication and genetic diversity of cattle. Mitochondrial DNA (mtDNA) mutations are particularly useful in this sense, given the characteristics of this organelle specific genome. The mitochondrion is present in multiple copies in the cytoplasm of all animal cells. It has its own DNA that is haploid and therefore does not undergo recombination. The maternal and paternal mtDNA contribution to the zygote is strongly unbalanced, with the egg containing thousand and the sperm only a few mitochondria. As a consequence, mutations occurring in mtDNA are clonally transmitted only through the maternal line: all progeny of a mutated female carry the mutation and all female progenies transmit the mutation to the next generation. Mutations detected in modern mtDNA define modern haplotypes that trace back to one of a few common ancestral haplotypes and with these form groups called haplogroups. Since mutation rate is approximately constant over time, mtDNA divergence can be used as a molecular clock to date haplogroups. Hence,

haplogroups age, diversity and geographic distribution can be used to trace back in time and space the evolutionary history of the female lineages. Patterns of mtDNA diversity can be also used to detect and date events of population expansions, for example as a consequence of domestication. To date cattle mtDNA investigations have targeted a single few hundred nucleotide long hypervariable sequence named control region or D-loop. Only two examples exist of the more informative and reliable analysis of the whole approximately 16,400 nucleotide long complete mtDNA sequence (Hiendleder *et al.*, 2007; Achilli *et al.*, 2008), now considered a standard for all human diversity investigations.

Genomic markers detect mutations in the nuclear genome. The animal cell nucleus contains its genome assembled in pairs of chromosomes, one inherited from the father and the other from the mother. During the formation of gametes, chromosome pairs undergo recombination, that is the event where maternal and paternal chromosome exchange part of their DNA forming new allele combinations that will be transmitted to the progeny. Genomic markers are particularly useful to investigate within and between breed genetic diversity, population admixture, inbreeding, to assign individuals to their breed of origin, to hunt important genes and in marker assisted and genomic selection. Patterns of diversity can also be used to assess domestication events and migration routes.

Different classes of nuclear markers exist. They differ in abundance, informativeness, robustness and cost of analysis. Their characteristics have been reviewed by Vignal *et al.* (2002). Most of the scientific results produced in cattle have used microsatellite markers, tandem repeats of short sequences (e.g. poly AC: ACACACACACACAC) that possess many alleles differing by the number of repeats. These are presently being replaced by Single Nucleotide Polymorphisms (SNP). SNPs are single nucleotide substitutions, deletions or insertions counted in millions in the genome, efficient and cheap to be analysed with new molecular technologies. With the decreasing pace of sequencing costs offered by new technologies we can't exclude that in the near future marker technologies will be complemented or even substituted by direct sequencing.

Finally, Y chromosome markers should be mentioned. In mammals, Y chromosome controls male sex and is transmitted from father to son. Y specific mutations transmit along the male lineage, similar to the transmission of mtDNA mutations in the female lineage, and can be used to investigate the same events observed using mtDNA but from a male perspective.

Domestication

Plant and animal domestication represented a milestone in human history. It gradually transformed hunter-gatherers migratory populations in farmers with stable settlements. Food security and relative abundance followed, permitting population growth, the progressive stratification of the society and the development of religion, culture and science. Essentially, modern complex society would not have developed without the development of agriculture.

The earliest archaeozoological evidences of domestic cattle in different geographic areas date from 8.800 to 8.300 BC (calibrated) in the Fertile Crescent (Helmer *et al.*, 2005), some 1500 years later in the Indus valley, 2000 years later in Africa (Meadow, 1993) and 3500 years later in North East Asia (Payne & Hodges 1997).

Where *Bos taurus* (taurine) and *Bos indicus* (zebu) were domesticated? Were they domesticated simultaneously or independently? Archaeozoology and genetics point in particular to two domestication centres located in Asia where *Bos taurus* and *Bos indicus* were domesticated from the auroch (*Bos primigenius*) ancestor, now extinct, that ranged from the Pacific through Asia and Europe to the Atlantic, and from the northern tundra southwards into India and Africa (Zeuner, 1963).

Bos indicus differs from *Bos taurus* by the presence of a prominent hump and by Y chromosome structure (Goldammer *et al.*, 1997). The mtDNA control region polymorphism reflect this dichotomy, indicating a divergent time between the two species largely pre-dating domestication, and spanning 200,000-1,000,000 years, hence providing a first evidence of two independent domestication events (Loftus *et al.*, 1994). Recently the mtDNA complete sequence (Hiendleder *et al.*, 2008; Achilli *et al.*, 2008) of hundred animals confirmed this hypothesis. The *Bos indicus* "I" macro-haplogroup was found to differ from *Bos taurus* "T" macro-haplogroup at about 237 out of almost 16.400 nucleotide positions (Hiendleder *et al.*, 2008). This places the most recent common ancestor between the two species at about 330,000 years according to Achilli *et al.* (2008) or even 2 million years according to Hiendleder *et al.* (2008) before present. Hence, *Bos taurus* and *Bos indicus* were likely domesticated from two different wild *Bos primigenius* subspecies: *Bos primigenius taurus* in the Fertile Crescent and *Bos primigenius indicus* in the Indian subcontinent (Bradley *et al.*, 1996; Bradley & Magee, 2006; Hiendleder *et al.* 2008).

Did secondary domestications take place also in Africa and Asia? No doubts seem to exist on a single *Bos indicus* domestication event. In *Bos indicus* the "I" macro-haplogroup comprises only two subclades: I1 and I2. These are widely represented in the Indian subcontinent. I1 diffused out of India northward, towards Southern and Southwestern China (Lai *et al.*, 2006), while I2 remained confined within Southern Asia. In spite of the wide diffusion of *B. indicus* in Africa, so far all African cattle have been found to possess *B. taurus* "T" mtDNA type (Bradley *et al.*, 1996).

Conversely different opinions exist on *Bos taurus* domestication in Africa and North Eastern Asia. In *B. taurus*, the "T" macro-haplogroup comprises five subclades: haplogroups T, T1, T2, T3 and T4 (Troy *et al.*, 2001; Mannen *et al.*, 2004). A sixth one, T5, has been recently discovered (Achilli *et al.*, 2008). T5 mutations are outside

the control region and have remained undetected in most investigations. Except T4, all are present in the Near East domestication centre. In Europe, T3 prevails, while in Africa T1 is by far the most frequent haplogroup. T4 is only observed in Eastern Asia. Based on these observations multiple *B. taurus* domestication events have been hypothesized, in Africa, the putative origin of T1 (Hanotte *et al.*, 2002), and in Eastern Asia, the only area in which T4 has been found (Mannen *et al.*, 2004).

Data coming from the complete mtDNA sequencing do not confirm these hypotheses (Achilli *et al.*, 2008). These authors underline the low divergence among “T” subclades, 8 fold less than in humans. In particular T1 differs by only two mutations from the ancestor of T3, and T4 appears to be a derived clade within T3. This scenario is more compatible with a single than with multiple *Bos taurus* domestications from distinct wild subspecies of *B. primigenius*, expected to have rather divergent mtDNA haplogroups, as in the case of *Bos primigenius taurus* and *Bos primigenius indicus*. However only a few data exist on the genetic divergence between geographically separated aurochs subspecies.

In favour of a clear differentiation are ancient DNA data produced on remains collected in central and northern Europe (Bailey *et al.*, 1996; Troy *et al.*, 2001; Edwards *et al.*, 2007) and Iberia (Anderung *et al.*, 2005). These indicate that central and northern European aurochs have mtDNA control region sequences classified as “P” (after *B. primigenius*) haplogroup, clearly divergent from the “T” of domestic taurine cattle. Edwards *et al.* (2007) also found the novel “E” (after the early Neolithic German site of Eilsleben) haplogroup and confirmed that bones collected in the Near East (Edwards *et al.*, 2007) carried the T haplogroup found in domestic taurine cattle, as expected. These authors conclude that European local aurochs gave no genetic contribution to domestic cattle maternal lineage. Traces of genetic divergence between Near Eastern and European aurochs can also be found in domestic cattle. Achilli *et al.* (2008) found a novel haplotype in the modern Cabannina breed in Italy. This, named Q, differs by 31 mutations from T and is a *B. primigenius* haplotype likely introgressed from wild aurochs ranging south of the Alps. Auroch mtDNA introgression in domestic cattle was also observed by Bollongino *et al.* (2006), that found one of the P haplotypes in ancient domestic cattle bones collected in the late Neolithic site of Svodin, in Slovakia. All these data indicate a clear divergence between the maternal lineages of *Bos primigenius* subspecies ranging Europe and Near East and India. If this pattern holds also in other geographic areas (e.g. North Africa and Northeast Asia), then the hypothesis of Achilli *et al.* (2008) of a single taurine cattle domestication becomes the most likely.

Against a genetic divergence between Near Eastern and European aurochs are data by Beja-Pereira *et al.* (2006). These authors found T3 haplotypes in ancient Italian *B. primigenius* remains, suggesting that Italian wild aurochs were homogeneous with the auroch population of the Near East, where T3 was captured during domestication. To date no other investigation confirmed this observation. However it is to be noted that Edwards *et al.* (2007) identified 8 mainly Early Neolithic European samples classified as aurochs by morphology that yielded “T” haplotypes. Because of these unexpected results, the authors considered them as probable misclassified domestic specimens. Were these samples really misclassified? What was the geographic range of the T haplogroup in *Bos primigenius*? Did several auroch subspecies co-exist in Europe? What haplogroups possessed North African and Northeastern Asian auroch subspecies? These and other questions are awaiting an answer. Clearly *Bos taurus* domestication was a complex event, more complex than we thought until recently. Multiple domestications might have occurred and rare secondary introgressions from local female aurochs can still be observed. Considering that introgressions from the wild are generally male-mediated, this phenomenon might have occurred rather frequently. Indeed, Götherström *et al.* (2005) suggested that this was the case. These authors found that Y chromosome haplotypes of North European cattle breeds are more similar to haplotypes of ancient specimens of European aurochs than to modern cattle breeds from Southern Europe and the Near East. Hence, many details are still missing and further investigation is needed on cattle mtDNA and Y chromosome phylogeography in local breeds and ancient remains, to help in exploring past events and revealing all the locations and the dynamics of cattle domestication.

Ruminant legacy with humans and world colonization

During the 3.000–4.000 years following the initial domestication events in the Fertile Crescent and in the Indus valley, agriculture spread over Europe, Africa and Asia. Archaeological evidences showed that two main colonization routes took place in Europe: the Mediterranean route and the Danubian route. A decrease of genetic diversity likely occurred during this colonization process in Europe. Indeed populations from Western Europe exhibit lower mitochondrial and genomic DNA polymorphism than those from the Near East (Medjugorac *et al.*, 1994; Troy *et al.*, 2001; Bradley & Magee, 2006). These results support the demic diffusion model proposed by Ammerman and Cavalli-Sforza (1984). This model indicates migration and colonization as drivers of agriculture expansion, rather than cultural transmission. According to it, farmers located at the edge of the expansion circle move, after demographic expansion, taking with them the so-called “Neolithic package” consisting in tools, knowledge, seeds and domesticated animals. In this process, only part of the existing gene pool is taken along to the next sites, producing a declining gradient of genetic diversity moving out of the domestication centre.

A number of secondary livestock migrations accompanied human migrations in more recent historical times and contributed to the shaping of local gene pools. For instance, the introgression of the African gene pool is observed in Iberian cattle breeds (Cymbron *et al.*, 1999; Miretti *et al.*, 2004; Anderung *et al.*, 2005; Beja-Pereira *et al.*

al., 2006), linked either to the Moorish occupation, or to even earlier events, or to an introgression from local aurochs (Beja-Pereira *et al.*, 2006).

B. taurus and *B. indicus* fully interbreed and extensive hybridization among these two cattle species has been observed in Africa (Bradley *et al.* 1996), Middle East (Edwards *et al.*, 1997b; Achilli *et al.*, 2008) and South America (Magee *et al.*, 2002) so that in these regions zebuine animals frequently possess taurine mtDNA (in Africa always) and in Near and South America also the opposite (taurine with zebuine mtDNA).

In Africa, pictorial representations and archaeological remains indicate that the earliest African cattle were humpless *B. taurus* (Hassan, 2000) and humped *B. indicus* likely appeared in the second millennium BC (Marshall, 2000). Today many African breeds have significant zebu ancestry, with zebu types and intermediate forms, often referred to as “sanga”, predominating in the arid zones of West and East Africa. Conversely, taurine populations are found in more tropical regions in West, East and Southern Africa. Zebu influence in Africa is clearly a male mediated introgression, rather than a substitution, since all African taurine and zebu breeds share the same set of taurine mtDNA haplotypes (Troy *et al.*, 2001). Interestingly, the level of zebu introgression decreases from East to West and drops almost to zero in subtropical areas endemic of the trypanosomosis disease transmitted by the tsetse fly to which zebu has no innate resistance (MacHugh *et al.*, 1997).

Molecular data from Asian cattle are less abundant and more fragmented. In North Eastern Asia (Mongolia, North China, Korea and Japan), most cattle lack humps and are classified as *Bos taurus* (Phillips, 1961). The earliest domestic cattle in the region were probably of this type and appeared between 3.000 and 2.000 years BC, several thousand years after primary aurochs domestication in West Asia (Payne & Hodges, 1997). Around the second century AD, cattle migrated from North China via the Korean peninsula to Japan.

The mtDNA sequence variation and frequency of *Bos taurus* and *Bos indicus* haplotypes were examined in native cattle from India, Philippines, Nepal, Japan, Mongolia, Korea and China (Mannen *et al.*, 2004; Lai *et al.*, 2005). *B. indicus* haplotypes were primarily found in India and Philippines. Their frequency decreases slightly below 50% in Nepal, South and Southwest China and Central China, while they are rare in Northwest and West China and Mongolia. After initial domestication in India, *Bos indicus* cattle were gradually introduced into China. South and Southwest China, which is geographically closer to South Asia, and received more *B. indicus* contribution than in other parts of China. Interestingly, only the more recent I1 haplogroup appears to have moved outside Southern Asia, confirming that Northern Asian zebu colonization was rather recent.

Only taurine haplotypes were found in Korean and Japanese *B. taurus* mtDNA. Asian taurine sequences fall into four geographically distributed haplogroups (T, T2, T3 and T4), with the Near Eastern T2 frequent in the Northwestern and Western China and Mongolia, because of geographic proximity and history, and T4 frequent in the Far East.

Occasionally, secondary introgression was observed from other *Bos* species, as for instance reported by Yu *et al.* (1999) that revealed introgression of mtDNA from yak (*Bos grunniens*) to a cattle breed from Diqing, Yunnan Province.

Post-domestication bovine voyages and cruises

Bovine migrations have been directly linked to post-Neolithic human migrations. This is the case in Africa, where cattle microsatellite diversity linked cattle dispersal to the origin and early dispersion of African pastoralism (Hanotte *et al.*, 2002). In this investigation a multivariate analysis of the genetic diversity, as assessed by 15 microsatellites on 50 breeds from 23 countries, identified three significant components. The first and major component correlated very well with the secondary introgressions of zebu from Asia. Interestingly data suggest that introgression occurred via the Horn and the East Coast of Africa rather than through the land connection of Egypt and Near East, as expected. The authors suggest this may be the result of the Arabic migrations into North and East Africa, starting from 700 AD, or the indication of long-distance early Indian Ocean trade between India and East Africa, Madagascar included. This trade seems to have left biological traces in both Africa and India. The second component did not correlate with zebu introgression and was interpreted as the oldest major African *B. taurus* component of the variation. It indicates the spread of early African pastoralism from Eastern Sahara, along two routes, westward and southward. Data indicate that transfer of cattle pastoralism to the south of Africa occurred through the eastern part of the continent, and not along a western route as previously proposed (Denbow, 1990). The third component correlated with a secondary *Bos taurus* influence from Europe and Near East.

Another interesting case of link between cattle and human history is found in Italy, where the demonstration of a bronze-age cattle migration traced the origin of the Etruscan civilization. This civilization arose in Italy in the first millennium BC and for centuries dominated part of the Italian Peninsula, including Rome. Pellecchia *et al.* (2007) found an unexpected burst of mtDNA diversity in Central Italy compared to North and South Italy and Central Europe. The analysis of genetic diversity indicated that four historical Central Italian breeds possessed all haplotypes found in the domestication centre and were genetically closer to Near Eastern than to surrounding Southern and Northern Italian breeds. This pattern suggests their post-domestication secondary migration from the Near East to Italy via the sea-route. From historical records and mtDNA data, authors were able to approximately date the migration events in between the second millennium and the first century BC, and to link the event with the

onset of the Etruscan culture, docked in the late Bronze age to the coasts of Tuscany (Central Italy) from the Near East as indicated by the classic historians Herodotus and Thucydides.

A more recent cattle cruise, following human migration, occurred from Iberic peninsulae and North Africa to the Americas, when European conquerors travelled to the Americas for glory and gold and traded slaves from Africa. Various cattle populations in the Americas (known as *Criollo* or *Creole* breeds) descend from some of the first animals introduced in the continent in the early colonial period (16th and 17th centuries). These breeds constitute potentially important Genetic Resources, as they are now well adapted to local environments and possess considerable diversity at the phenotypic level (Carvajal-Carmona *et al.*, 2003).

Three are the main historical routes of cattle colonization into Americas. The first links Spain and North Africa to the Caribbean. The second goes from Portugal to Sao Paulo (Sao Vicente) and witnessed the arrival of the first cattle heads to Brazil. The last links North Europe to North America and was travelled during the Anglo-Saxon colonization process, mostly in the 17th century.

To investigate the origin of South American cattle it is necessary to rely on very old, imprecise and disperse information sources. The main are the “Cédulas Reales” (Spanish official documents) more than 400 year old, the “Archivo General de Indias de Sevilla” and the conquerors reports of events happened during discovery, conquest and colonization of the south part of the American continent. However, these historical records are sometimes poor of information on cattle, not a main topic in that period of intense discovery and excitement (Ortiz, 1999).

The first boarding of cattle towards the New World occurred during the second trip of Columbus (Cadiz, 25 of September of 1493). Due to space problems in those small ships, the cattle were small yearling calves accompanied by pigs and ewes. The expedition arrived in the island of Santo Domingo, called by Columbus “La Española”. In general, the introduction of cattle in the “New Spanish World” was very slow and quite difficult due to different factors, notably the difficulty implied in offering proper health and nutrition to young yearling calves and almost the impossibility to handle and feed adult animals in those so rudimentary boats. Due to these circumstances, “La Española” Governor prohibited the exit of this type of cattle from the island to other Antillean or continental regions, indicating the clear objective to have exclusive features on the cattle business in the islands of the Caribbean and between these and the mainland. This measure was so rigid and strictly fulfilled that in 1509, when it was decided to populate the island of Jamaica with domestic animals, only horses and pigs could leave “La Española”, but not cattle.

After the first Columbus expedition, the boarding of cattle to America was made mainly from Seville, although also Cadiz or other ports of Andalusia were sporadically animal exporting ports. Andalusian breeds have served as the unique basis for the formation of *criollo* breeds. Santo Domingo was the departure point for the distribution of cattle to the Antilles and the continent in the period after the second quarter of 16th century. The expansion towards the continent was quite delayed, due to the prohibition of cattle exports, possible causing the most effective measure against the depopulation of the island. Only 30 years after Columbus second expedition, the bovine expansion outside “La Española” has started. At that time was easier to obtain authorization from the Spanish Crown to take cattle and other domestic animals to Santa Marta, in the nowadays Colombia. This was the first historical register of the authentic and successful arrival of bovine from the Caribbean to the West part of South America. After this event in 1524, and during the next 50 years, cattle has been introduced in Venezuela and Panama, and later to Peru, Chile, Paraguay, Argentina and Uruguay (Ortiz, 1999).

Revisiting the history of Spanish colonization in Uruguay, Barrán (2008) provides us a good feeling on how cattle have adapted to the Central and South Part of Latin America: *...The arrival of the Europeans, and the cattle and equine they left at the beginning of century XVII in Uruguayan territory, modified the habitat, demography and habits of those natives. Turned into skilful riders and cow hunters, the natives finished decimated by smallpox and persecution of the white man, since their culture has transformed them in hostiles to the work forms brought by the Spanish conqueror...*

The mtDNA analysis of South American and Caribbean native cattle populations found that the most common haplogroup was T3 (64%), the most prevalent in western Europe, followed by the African T1 (32%) and by T2 (4%). African-derived haplotypes (belonging to the T1 haplogroup) may have been introduced into America either from Iberia or by direct importation from Africa (Magee *et al.*, 2002; Miretti *et al.*, 2004). To further investigate the origin of American T1 haplotypes, ; Lirón *et al.* (2006) proposed a subdivision of T1 haplotypes in two groups, the monophyletic sub-haplogroup T1a and all remaining haplotypes, collectively indicated as T1*. Interestingly, in Europe T1* is found in Portuguese and not in Spanish breeds while in America is present in Creole cattle from Argentina, Bolivia and Colombia, all former Spanish colonies. In Europe T1a is found only in the Spanish breed Retinta (Miretti *et al.*, 2004) while in America in Brazil and non Spanish Caribbean islands. To explain this unexpected pattern, Lirón *et al.* (2006) hypothesize the introgression of the African haplotypes directly from somewhere in mainland Africa during the slave trading, rather than from the Iberian peninsula. Although sound, this hypothesis needs confirmation, since T1a haplogroup has never been observed in Africa. More extensive sampling both in America and Africa seems necessary, particularly in countries starting point of slave trade routes.

Another recent story of cattle travelling to the Americas regards the introduction of zebu in Brazil. Zebu breeds started entering Brazil in the 19th century, but importations intentionally aiming at improving the genetics of national herds started only after the second half of the century. Nowadays, Brazil holds the largest commercial cattle

populations worldwide (200 million heads), with the majority of beef cattle represented by the Nelore breed. Other cattle breeds can be classified according to their origin, as exotic or Creole. Exotic breeds imported during the last 100 years include both zebuine and taurine animals and currently make up the bulk of this intensively managed population. Locally adapted Creole breeds originated from cattle introduced by the European conquerors subsequently forged by natural selection and admixture with other imported breeds. While historical knowledge exists on the Brazilian Creole breeds, very little is still known on their genetic composition (Egito *et al.*, 2007).

The Creole Latin American cattle probably holds an irreplaceable still unexplored and underexploited genetic pool for the adaptation to Latin America climatic and rearing conditions, adaptation reached in 500 years of natural and human selection (Primo, 1992).

Conclusions

Although information of cattle DNA diversity are accumulating at an increasing pace, many questions still remain open, spanning from the number and sites of domestication events (are they really two or are they more? Where? In Africa? In East Asia?), to the timing and routes of expansion (by land or sea route?) and to the origin of the genetic traces we now try to interpret (what is the relative contribution of migration and trade? How isolation by distance affects the pattern we observe and interpret as migration?). In addition, a frequent characteristic of livestock DNA based biodiversity studies is their fragmentation. Many investigations are focussed on local issues and on the investigation and comparison of a few breeds in a single country or a limited region (see Baumung *et al.*, 2004 for a survey). Continental level investigations are only a few, and a global estimate of livestock diversity is still missing. While in the case of mtDNA sequences, a global dataset can be reconstructed from databank deposited information, this exercise is not possible with nuclear markers, as microsatellites. Conversely, global DNA data will provide interesting hints on domestication and history of farm animal species, and indirectly, of human history shedding light to the post-domestication migration and trade routes that human and animal travelled together. Also worldwide molecular data would provide useful information for conservation decisions, since the conservation of biodiversity, although managed locally, is a global issue that interests all humankind.

The EU GLOBALDIV project (*A global view of livestock biodiversity and conservation* - www.globaldiv.eu), financed in the frame of the European GENRES action, has among its objectives to analyse data on nuclear DNA markers produced by large scale independent projects in a meta-analysis, in order to have a glance on global diversity. Statistical methods to accomplish this task have been proposed and tested (Freeman *et al.*, 2006), although they need improvement and further validation.

The project aims also to work on reducing the fragmentation of future biodiversity studies, by providing guidelines and standards for exploitation of established and recent technologies (high throughput SNPs and sequencing) to investigate biodiversity avoiding ascertainment bias. Indeed, emerging technologies have a great potential for the investigation of animal genome, however only a few studies with the use of large SNP panels to characterise cattle genome have been published, addressing the level of linkage disequilibrium in cattle breeds (Gautier *et al.*, 2007; McKay *et al.*, 2008) but none addressing diversity issues so far.

A great deal of genomic information is expected to become available in the near future. The bovine HapMap project has uncovered millions of putative SNPs in the cattle genome and validated tens of thousands in several breeds. These data will soon appear in the literature and assays are already available for in lab or outsourcing analyses. In addition to practical applications in gene assisted and genome wide selection, genomic data will provide unvaluable information for the investigation of livestock evolutionary history and adaptation to the wide range of environment in which domestic animals are reared nowadays providing livelihood, food security and leisure to mankind.

References

- Achilli A *et al.* Mitochondrial Genomes of Extinct Aurochs Survive in Domestic Cattle. *Curr Biol* 2008;18:157-8.
- Ammerman AJ & Cavalli-Sforza LL. *The Neolithic Transition and the Genetics of Populations in Europe*. Princeton: Princeton Univ Press, 1984.
- Anderung C, Bouwman A, Persson P, Carretero JM, Ortega AI, Elburg R, Smith C, Arsuaga JL, Ellegren H, Götherström A. Prehistoric contacts over the Straits of Gibraltar indicated by genetic analysis of Iberian Bronze Age cattle. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:8431-5.
- Bailey JF, Richards MB, Macaulay VA, Colson IB, James IT, Bradley DG, Hedges RE, Sykes BC. Ancient DNA suggests a recent expansion of European cattle from a diverse wild progenitor species. *Proc Biol Sci* 1996;263:1467-73.
- Barrán J. P. In <http://www.rau.edu.uy/uruguay/historia/Uy.hist1.htm>, 2008.
- Baumung R, Simianer H, Hoffmann I. Genetic diversity studies in farm animals – a survey. *J Anim Breed Genet* 2004;121:361–373.

- Beja-Pereira A, *et al.* The origin of European cattle: evidence from modern and ancient DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:8113-18.
- Bollongino R, Edwards CJ, Alt KW, Burger J, Bradley DG. Early history of European domestic cattle as revealed by ancient DNA. *Biol Lett* 2006;2:155-9.
- Bradley DG, MacHugh DE, Cunningham P, Loftus R. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:5131-35.
- Bradley DG, Magee DA Genetics and origins of domestic cattle. In: Zeder MA, Bradley DG, Emshwiller E, Smith BD (eds.). *Documenting Domestication. New Genetic and Archaeological Paradigms* Berkeley: University of California Press, 2006.
- Carvajal-Carmona LG, Bermudez N, Olivera-Angel M, Estrada L, Ossa J, Bedoya G, Ruiz-Linares A. Abundant mtDNA Diversity and Ancestral Admixture in Colombian *criollo* Cattle (*Bos taurus taurus*). *Genetics* 2003, 165: 1457–1463.
- Cymbron T, Loftus RT, Malheiro MI, Bradley DG. Mitochondrial sequence variation suggests an African influence in Portuguese cattle. *Proc Biol Sci* 1999;266:597-603.
- Denbow J. Congo to Kalahari: data and hypotheses about the political economy of the western stream of the Early Iron Age. *Afr Archaeol Rev* 1990;8:139-175.
- Edwards *et al.* Mitochondrial DNA analysis shows a Near Eastern Neolithic origin for domestic cattle and no indication of domestication of European aurochs. *Proc Biol Sci* 2007;274:1377-85.
- Egito AA, Paiva SR, Albuquerque MS, Mariante M, Almeida LD, Castro SR, Grattapaglia D. Microsatellite based genetic diversity and relationships among ten Creole and commercial cattle breeds raised in Brazil. *BMC Genetics* 2007, 8:83.
- FAO. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. Rome: FAO, 2007.
- Freeman AR, Bradley DG, Nagda S, Gibson JP, Hanotte O. Combination of multiple microsatellite data sets to investigate genetic diversity and admixture of domestic cattle. *Anim Genet* 2006;37:1-9.
- Gautier M, Faraut T, Moazami-Goudarzi K, Navratil V, Foglio M, Grohs C, Boland A, Garnier JG, Boichard D, Lathrop GM, Gut IG, Eggen A. Genetic and haplotypic structure in 14 European and African cattle breeds. *Genetics* 2007;177:1059-70.
- Goldammer T, Brunner RM, Schwerin M. Comparative analysis of Y chromosome structure in *Bos taurus* and *B. indicus* by FISH using region-specific, microdissected, and locus-specific DNA probes. *Cytogenet Cell Genet* 1997;77:238-41.
- Götherström A, Anderung C, Hellborg L, Elburg R, Smith C, Bradley DG, Ellegren H. Cattle domestication in the Near East was followed by hybridization with aurochs bulls in Europe. *Proc Biol Sci* 2005;272:2345-50.
- Grigson C- The craniology and relationships of four species of *Bos*. 5. *Bos indicus* L. *J Archaeol Sci* 1980;7:3–32.
- Hanotte O, Bradley DG, Ochieng JW, Verjee Y, Hill EW, Rege JE. African Pastoralism: Genetic Imprints of Origins and Migrations. *Science* 2002;296:336-9.
- Hassan FA. Climate and cattle in North Africa: a first approximation. In: Blench RM, MacDonald KC (eds.). *Livestock: Archaeology, Genetics, Linguistics and Ethnography*. London: UCL Press, 2000.
- Helmer D, Gourichon L, Monchot H, Peters J, Segui MS. Identifying early domestic cattle from pre-pottery Neolithic sites on the Middle Euphrates using sexual dimorphism. In: Vigne JD, Peters J, Helmer D (eds.). *The First Steps of Animal Domestication. New Archaeological Approaches*. Oxford: Oxbow Books, 2005.
- Hiendleder S, Lewalski H, Janke A. Complete mitochondrial genomes of *Bos taurus* and *Bos indicus* provide new insights into intra-species variation, taxonomy and domestication. *Cytogenet Genome Res* 2007;120:150-6.
- Lai SJ, Liu YP, Liu YX, Lia XW, Yao YG. Genetic diversity and origin of Chinese cattle revealed by mtDNA D-loop sequence variation. *Mol Phylogenet Evol* 2006;38:146-54.
- Lirón JP, Bravi CM, Mirol PM, Peral-García P, Giovambattista G. African matrilineages in American Creole cattle: evidence of two independent continental sources. *Animal Genetics*, 2006, 37, 379– 382.
- Loftus RT, MacHugh DE, Bradley DG, Sharp PM, Cunningham P. Evidence for two independent domestications of cattle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:2757-61.
- MacHugh DE, Shriver MD, Loftus RT, Cunningham P, Bradley DG. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics* 1997;146:1071-86.
- Magee DA, Meghan C, Harrison S, Troy CS, Cymbron T, Gaillard C, Morrow A, Maillard JC, Bradley DG. A partial African ancestry for the creole cattle populations of the Caribbean. *J Hered* 2002;93:429-432.
- Mannen H, Kohno M, Nagata Y, Tsuji S, Bradley DG, Yeo JS, Nyamsamba D, Zagdsuren Y, Yokohama M, Nomura K, Amanf T. Independent mitochondrial origin and historical genetic differentiation in North Eastern Asian cattle. *Mol Phylogenet Evol* 2004;32:539-44.

- Marshall F. The origins and spread of domestic animals in East Africa. In: Blench RM, MacDonald KC (eds.). *Livestock: Archaeology, Genetics, Linguistics and Ethnography*. London: UCL Press, 2000.
- McKay SD, *et al.* An assessment of population structure in eight breeds of cattle using a whole genome SNP panel. *BMC Genet* 2008;9:37.
- Medjugorac I, Kustermann W, Lazar P, Russ I, Pirchner F. Marker-derived phylogeny of European cattle supports demic expansion of agriculture. *Anim Genet* 1994;Suppl 1:19-27.
- Meadow A. Animal domestication in the Middle East: a revised view from the Eastern margin. In G. Possehl (eds.). *Harappan Civilization*. New Dehli: Oxford and IBH, 1993.
- Miretti MM, Dunner S, Naves M, Contel EP, Ferro JA. Predominant African-Derived mtDNA in Caribbean and Brazilian Creole Cattle is also Found in Spanish Cattle (*Bos taurus*). *J Hered* 2004;95:450-3.
- Ortiz MB. In: <http://www.racve.es/actividades/historia-veterinaria/> 1999-12-15ManuelBetetaOrtiz.htm, 1999.
- Payne WJA, Hodges J. *Tropical Cattle, Origins, Breeds and Breeding Policies*. Oxford: Blackwell Science Ltd, 1997.
- Phillips W. World distribution of the major types of cattle. *J Hered* 1961;52:207-13.
- Primo AT. The Iberic Cattle In The Americas: 500 Years Later *Arch. Zootec.* 199, 41 (extra): 421-432.
- Santiago A.A. *A EPOPÉIA DO ZEBU. A seleção das raças:Gir, Guzerá, Nelore, Indubrasil e Sindi*, São Paulo - Brasil, Empresa Gráfica Carioca S/A, 1960
- Troy CS, MacHugh DE, Bailey JF, Magee DA, Loftus RT, Cunningham P, Chamberlain AT, Sykes BC, Bradley DG. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* 2001;410:1088-91.
- Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet Sel Evol* 2002;34:275-305.
- Yu Y, Nie L, He ZQ, Wen JK, Jian CS, Zhang YP. Mitochondrial DNA variation in cattle of south China: origin and introgression. *Anim Genet* 1999;30:245-50.
- Zeuner FE. *A History of Domesticated Animals*. London: Hutchison, 1963.