

RELACIÓN GENÉTICA DE LA VACA MARISMEÑA CON ALGUNAS RAZAS ANDALUZAS

GENETIC RELATIONSHIP OF THE MARISMEÑA COW WITH SOME ANDALUSIAN BREEDS

Quiroz, J.¹, A. Martínez², J.R.F. Marques³, J. Calderón⁴ y J.L. Vega-Pla⁵

¹Campo Experimental Huimanguillo. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Km 1. Carr. Huimanguillo-Cárdenas. Huimanguillo. Tabasco. México. Autor para correspondencia: jquiroz@141.com

²Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. 14014 Córdoba. España. E-mail: ib2mamaa@uco.es

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Amazônia Oriental. Belém PA. Brasil. E-mail: marques@cpatu.embrapa.br

⁴Estación Biológica de Doñana. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Edificio Perú. 41013 Sevilla. España.

⁵Laboratorio de Genética Molecular. Servicio de Cría Caballar. Carretera Madrid-Cádiz km 397. 14071 Córdoba. España. E-mail: jvegpla@oc.mde.es

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Asignación individual. Microsatélites. Razas *Bos taurus*.

ADDITIONAL KEYWORDS

Individual assignment. Microsatellites. *Bos taurus* breeds.

RESUMEN

La raza Marismeña es una de las razas con el color de capa más variado, incluye desde los colores sólidos hasta los berrendos. El objetivo de este trabajo fue detectar la influencia de algunas razas andaluzas en la población bovina Marismeña del Parque Nacional de Doñana. Se utilizó sangre para la extracción de ADN de animales de las razas (n): Marismeña (40), Berrenda en Colorado (40), Berrenda en Negro (32) y Pajuna (40); se manejaron como poblaciones control la Palmera (43) y la Nelore (29). Se utilizó una batería de 27 microsatélites que fueron aplicados en el proyecto europeo de caracterización de razas bovinas. La mayoría de los microsatélites se encontraron en equilibrio Hardy-Weinberg excepto la Berrenda en Negro que tuvo

11 en desequilibrio ($p < 0,01$). Se realizó un análisis de asignación de los individuos a su población con el programa Structure versión 2.1. El análisis bayesiano para asignación multilocus indicó que la raza Marismeña es la que está genéticamente mejor definida. Se analizaron valores de k (número de poblaciones) de 2 a 6. Se concluye que la raza Marismeña no tiene influencia de Pajuna o de las Berrendas.

SUMMARY

The Marismeña breed has a large variety of coat colors, this fact could be explained by the influence of other Andalusian breeds like Pajuna,

Arch. Zootec. 56 (Sup. 1): 449-454. 2007.

or Berrenda. The objective of this research work was to detect the influence of some different Andalusian bovine breeds into the Marismeña bovine population from Doñana National Park. For the DNA extraction blood samples were used from the races: (n=224) Marismeña (40), Berrenda en Colorado (40), Berrenda en Negro (32) y Pajuna (40); as control groups, Palmera (43) and Nelore (29). A 27 microsatellites battery applied in the European project of bovine breeds characterization was used in this work. Most of microsatellites were Hardy-Weinberg equilibrated, except Berrenda en Negro was found 11 in disequilibrium ($p < 0.01$). The individual assignment was performed with Bayesian (Structure) method. Bayesian clustering for multiple-locus assignment to genetic groups indicated low levels of admixture in the Marismeña breed. Thus, the Marismeña breed may not be admixture with Pajuna, Berrenda en Negro or Berrenda en Colorado.

INTRODUCCIÓN

Las razas autóctonas de animales domésticos están siendo en gran medida desaprovechadas, la información más reciente sugiere que el 30 % de las razas del mundo están en peligro de extinción (Gala y Boyazoglu, 2001). Esta pérdida de variabilidad de los recursos genéticos supone un atraso en el mantenimiento de la diversidad. Por largos periodos de selección natural y evolución se ha conformado un conglomerado de genes que posee características valiosas como la adaptación a condiciones adversas, incluyendo resistencia a enfermedades, aclimatación a periodos de sequía y al consumo de pastos de mala calidad. Por todo lo anterior constituye una fuente de alimentación rica en proteína en situaciones difíciles.

España cuenta con larga tradición en la cría y explotación de ganado bovino, que por su diversidad agroecológica posee un patrimonio genético importante, representado por una gran diversidad de razas (Sánchez Belda, 2002).

En este contexto encontramos a una raza bovina muy particular y única de España como es la raza Marismeña. Se caracteriza por mantenerse en un régimen asilvestrado, donde no se ha conocido hasta el momento testimonio de domesticación, la mano del hombre ha intervenido muy poco, limitándose solo a los saneamientos anuales.

La raza Marismeña, pasta en los municipios de Almonte e Hinojos de Huelva, principalmente dentro del Parque Nacional de Doñana. Habita esta zona desde hace siglos, donde es explotada con los mismos métodos tradicionales (sin uso de insumos). Este núcleo ha servido como una población piloto que ha permanecido en aislamiento desde principios del siglo XIX, y hasta la fecha su explotación tiene un carácter ecológico. La característica de los sistemas de producción extensivos es que los controles de rendimiento y genealógicos son poco rigurosos, por lo que podrían generar dudas sobre su procedencia.

Esta raza bovina por mucho tiempo ha sido olvidada hasta que, en 1997, fue incluida en el catálogo oficial de razas españolas, originalmente con el nombre de raza Mostrenca. Se consideró como raza autóctona de protección especial (las que se encuentran en grave regresión o en trance de desaparición según el Real Decreto 1682/1997). Posteriormente, en 2001 se de-

RELACIÓN GENÉTICA DE LA VACA MARISMEÑA

signó con el nombre de Marismeña por la Orden Ministerial 160/2001. La Junta de Andalucía desde 1994, la clasifica como raza en peligro de extinción.

La raza Marismeña es una de las razas con el color de capa más variado, incluye desde los colores sólidos hasta los berrendos; por esta razón, podría existir alguna influencia de otras razas andaluzas como la Pajuna o las

Berrendas en Negro y Colorado.

El objetivo de este trabajo fue detectar la influencia de algunas razas andaluzas en la población bovina Marismeña del Parque Nacional de Doñana.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó sangre para la extracción

Tabla 1. Equilibrio Hardy-Weinberg de los microsatélites por población. (Hardy-Weinberg equilibrium for the microsatellites by population).

Locí	Berrenda en Colorado	Berrenda en Negro	Marismeña	Pajuna	Palmera	Nelore	Total
BM1314	-	-	-	-	-	-	0
BM1818	-	*	-	-	-	-	1
BM1824	-	-	-	-	-	*	1
BM2113	-	*	-	*	-	*	3
BM8125	-	-	-	-	-	-	0
CRSM60	-	*	*	-	*	*	4
CSSM66	-	*	-	*	-	-	2
ETH10	*	-	-	-	-	-	1
ETH185	-	-	-	-	*	*	2
ETH225	-	-	-	-	-	-	0
ETH3	-	*	-	-	-	-	1
HAUT24	-	*	-	-	-	-	1
HAUT27	-	*	-	*	-	-	2
HEL13	-	-	-	-	-	-	0
HEL9	*	*	-	-	-	*	3
ILSTS011	-	-	-	-	-	-	0
ILSTS6	-	-	-	-	-	-	0
INRA23	-	-	-	-	-	-	0
INRA32	-	-	-	-	-	*	1
INRA35	-	*	*	*	-	-	3
INRA37	*	-	-	-	-	-	1
INRA63	*	-	-	-	-	-	1
MM12	-	-	-	-	-	-	0
SPS115	-	*	-	-	-	-	1
TGLA122	-	-	-	-	-	-	0
TGLA227	-	*	-	-	-	-	1
TGLA53	-	-	-	-	*	-	1
TOTAL	4	11	2	4	3	6	-

de ADN de animales de las razas (n): Marismeña (40), Berrenda en Colorado (40), Berrenda en Negro (32) y Pajuna (40); se manejaron como poblaciones control la Palmera (43) y la Nelore (29). Se obtuvo el ADN siguiendo el protocolo de Kawasaki (1990) y se utilizó una batería de 27 microsatélites que fueron aplicados en el proyecto europeo de caracterización de biodiversidad bovina (<http://www.projects.roslin.ac.uk/cdiv/markers.html>).

La amplificación se realizó por PCR y la electroforesis se realizó en un secuenciador automático ABI 377 XL. La tipificación alélica se realizó con los paquetes informáticos Genescan v3.2.3 y Genotyper v2.5. Las características de estos microsatélites en la raza ya fueron evaluados y descritos por Quiroz *et al.* (2004) y Martínez *et al.* (2005).

El cálculo de la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg se realizó, según Guo y Thompson (1992) con el algoritmo en cadena de Monte Carlo Markov, con el programa informático GENEPOP versión 3.1c (Raymond y Rousset, 1995).

Finalmente, se realizó un análisis de asignación de los individuos a su población con el programa Structure version 2.1 (Pritchard *et al.*, 2000). Se utilizó un algoritmo bayesiano que emplea un modelo basado en método de cadenas Markov de Monte Carlo, el cual estima la distribución *a posteriori* de cada coeficiente de mezcla de cada individuo (q). La media de esta distribución representa una estimación de la proporción que el genoma de un individuo tiene de las poblaciones parentales. El algoritmo supone que las poblaciones ancestrales están en equilibrio Hardy-

Weinberg.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **tabla I** se muestran los microsatélites utilizados y el resultado de la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg por población. Esta prueba de equilibrio es importante en las razas españolas de este estudio porque están en protección especial por el peligro de extinción. El microsatélite más desequilibrado resultó ser el *CRSM60*, que estuvo desequilibrado en 4 de las razas. La población con más microsatélites desequilibrados fue la Berrenda en Negro con 11 (40%). En este caso las razas de referencia Nelore y Palmera tuvieron el 22% y 11%, respectivamente. La importancia de la prueba de equilibrio radica en que es el soporte teórico para dar validez a los análisis estadísticos posteriores. Esto lo ha corroborado en algunos trabajos como el de Gomes *et al.* (1999). Cuando un microsatélite está en desequilibrio en varias poblaciones, el microsatélite puede tener algún problema por alguna amplificación diferenciada o bien por errores de tipificación (Bradley y Vigilant, 2002; Pompanon *et al.*, 2005). Cuando una población tiene varios microsatélites en desequilibrio, indica que la población está bajo alguna fuerza que cambia las frecuencias genotípicas: migración, selección o deriva (Pepin *et al.*, 1995).

En lo que se refiere a la prueba de asignación de individuos, los resultados se presentan en la **figura 1**. En la primera ronda, cuando el valor $k=2$ el algoritmo diferenció las poblaciones en cebuinas y taurinas, cuando $k=3$ se

RELACIÓN GENÉTICA DE LA VACA MARISMEÑA

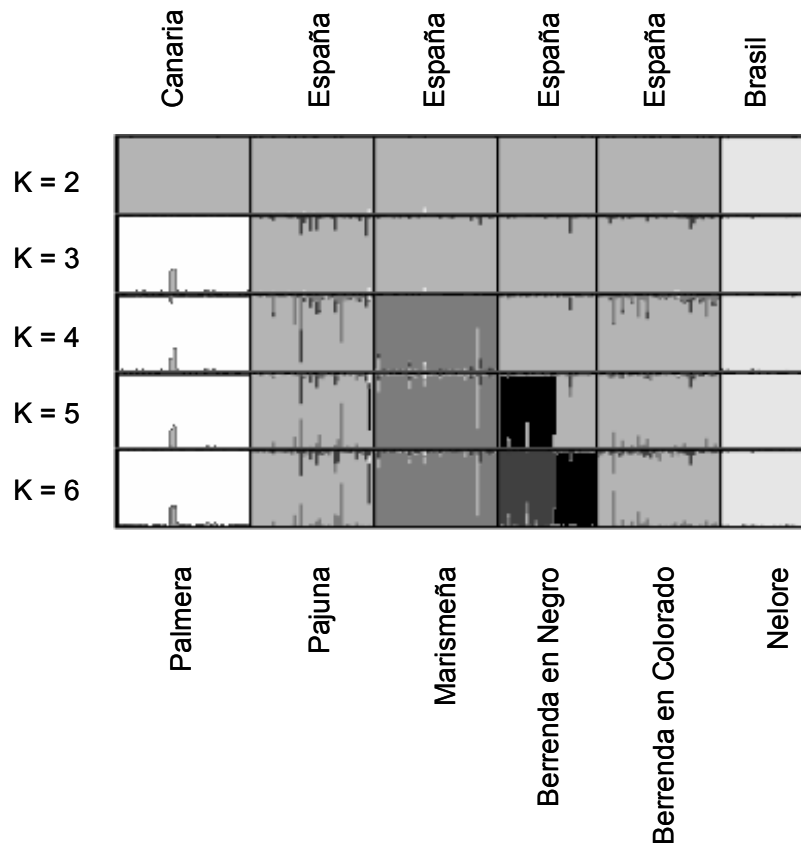


Figura 1. Porcentaje de asignación a cada cluster con valores de K de 2 a 6. (Percentage of individual assignment to cluster with values of k from 2 to 6).

separó la raza Palmera, probablemente debido a su aislamiento, por cuya razón se utilizó en este trabajo como población control. Cuando $k=4$ fue la Marismeña; con $k=5$, la Berrenda en Negro, aunque mezclada y cuando $k=6$

se mantienen juntas la Pajuna y la Berrenda en Colorado y divide la Berrenda en Negro. Se concluyó que la raza Marismeña no ha tenido influencia de las razas Pajuna, Berrenda en Negro ni Berrenda en Colorado.

BIBLIOGRAFÍA

Bradley, B.J. and L. Vigilant. 2002. False alleles derived from microbial DNA pose a potential source of error in microsatellite genotyping

of DNA from faeces. *Mol. Ecol. Notes*, 2: 602-605.

Gala, S. y J. Boyazoglu. 2001. El boletín de

Archivos de zootecnia vol. 56, Sup. 1, p. 453.

QUIROZ, MARTÍNEZ, MARQUES, CALDERÓN Y VEGA-PLA

- información sobre recursos genéticos animales. FAO. Roma, Italia. 156 pp.
- Gomes, I., A. Collins, C. Lonjou, N.S. Thomas, J. Wilkinson, M. Watson and N. Morton. 1999. Hardy-Weinberg quality control. *Ann. Hum. Genet.*, 63: 535-538.
- Guo, S.W. and E.A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, 48: 361-372.
- Kawasaki, E. 1990. Sample preparation from blood, cells and other fluids. PCR Protocols: A guide to methods and applications. Ed. Academic Press, New York.
- Martínez, A.M, J. Calderón, E. Camacho, C. Rico J.L. Vega-Pla y J.V. Delgado. 2005. Caracterización genética de la raza bovina Mostrenca con microsatélites. *Arch Zootec.*, 54: 357-361.
- Pepin, L., Y. Amigues, A. Lepingle, J. L. Berthier, A. Bensaid and D. Vaiman. 1995. Sequence conservation of microsatellites between *Bos taurus* (cattle), *Capra-hircus* (goat) and related species -examples of use in parentage testing and phylogeny analysis. *Heredity*, 74: 53-61.
- Pompanon, F., A. Bonin, E. Bellemain and P. Taberlet. 2005. Genotyping errors: causes, consequences and solutions. *Nature Reviews Genetics*, 6: 847-859.
- Pritchard, J.K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
- Quiroz, V.J., M.A. Martínez, R.D. Martínez, E. Armstrong, J. Calderón y J.V. Delgado. 2004. Relaciones genéticas de la raza Mostrenca con otras razas bovinas. In: IV Congreso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animales. Ponte de Lima, Portugal. 15-17 de septiembre del 2004. p 224-230.
- Raymond, M. and F. Rousset. 1995. GENEPOP (version 1.2): A population genetics software for exact test and ecumenicism. *J. Hered.*, 86: 248-249.
- Sánchez Belda, A. 2002. Razas ganaderas españolas bovinas. 1ª Ed. Feagas Mapa. Madrid. España.