

PRIMEROS ESTUDIOS DE CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LA RAZA BOVINA MALLORQUINA.

I. Martín-Burriel, R. Osta, G. Puigserver, C. Rodellar, P. Zaragoza.
Laboratorio de Genética Bioquímica.
Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza
Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

La raza bovina Mallorquina se encuentra en un estado de riesgo crítico. Según información de la SERGA, el censo de esta población en 1999 consistía en 90 hembras y 15 machos reproductores repartidos en 12 rebaños. Criada en la Isla de Mallorca, esta raza desciende del tronco Rojo Convexo.

En el trabajo que presentamos hemos analizado un panel de 30 marcadores microsatélites, estandarizados y recomendados por el proyecto europeo ResGen (<http://www.androlocus.vet.uu.nl/RESGEN>) en una muestra de esta población. Los resultados en cuanto a variabilidad genética los hemos comparado con aquellos obtenidos por nuestro grupo, utilizando la misma batería de marcadores, en otras razas autóctonas, algunas de ellas pertenecientes al mismo tronco evolutivo como la Pirenaica o la Menorquina. Finalmente se han calculado distintos valores de distancia genética entre la Mallorquina y estas otras poblaciones autóctonas, los árboles filogenéticos y el cálculo del tiempo de divergencia entre poblaciones a partir de la distancia D_{TL} .

MATERIALES Y METODOS

Se eligió una muestra aleatoria de 28 animales pertenecientes a la raza Mallorquina. A partir de muestras de sangre se obtuvo el ADN genómico utilizando metodologías convencionales y se analizaron los 30 microsatélites estandarizados y recomendados por el Proyecto Europeo ResGen (<http://www.androlocus.vet.uu.nl/RESGEN>). Los distintos alelos se identificaron mediante PCR radiactivo. Junto a estos animales, se analizaron muestras control que nos han permitido utilizar una nomenclatura estandarizada, de forma que en un futuro se pueda comparar esta población con otras razas bovinas europeas.

Para el análisis de los datos se han utilizado distintos paquetes estadísticos. De esta forma se han estimado distintas medidas de variabilidad genética (número medio de alelos por locus, heterocigosidades y porcentaje de loci porlimórficos) con el programa BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1989), Equilibrio Hardy-Weimberg y desequilibrio genotípico con el programa Genepop 3.1 (Raymond y Rousset, 1995). Estos valores se compararon con los obtenidos por nuestro grupo en distintas razas bovinas autóctonas (Menorquina, Pirenaica, de Lidia, Casta Navarra y Betizu). Además se utilizó el programa Bottleneck (Pyri et al., 1999) el cual determina si la población ha sufrido una disminución reciente en su tamaño efectivo.

La diferenciación genética con el resto de las razas autóctonas analizadas con anterioridad se realizó mediante test exacto (GENEPOP: Raymond y Rousset, 1995) y mediante el cálculo de los valores de distancia genética D_a (Nei et al., 1983). Esta distancia, calculada mediante el programa MICROSAT " (Minch, 1997), se utilizó para la construcción de árboles filogenéticos por el método de Neighbour Joining (Satiou y Nei, 1987) y el UPGMA (Sneath y Sokal, 1973).

Finalmente se realizó el cálculo del tiempo de divergencia entre poblaciones a partir de la distancia D_{TL} (Tomiuck y Loeschcke, 1991 y 1995) según Kantanen et al. (2000).

RESULTADOS

Variabilidad genética

La muestra de bovino Mallorquino analizado mostró un 90% de loci polimórficos con un número medio de alelos por locus de 3,3. La Tabla 1 muestra estos valores de variabilidad comparados con los obtenidos en otras razas autóctonas. Como resultados más significativos podemos destacar que mientras dos microsatélites INRA32 y SPS115 no presentaron polimorfismo en esta raza, en el marcador TGLA122 se ha observado un alelo específico de esta población (145pb) con una frecuencia de 46,4%. Un fenómeno similar fue observado en el marcador INRA23 donde el alelo de 198pb muestra una frecuencia relativamente alta (44,6%) cuando lo comparamos con el resto de poblaciones (de 0,00 a 0,05%).

Tabla 1: Valores de variabilidad genética de la raza Mallorquina comparados con los valores obtenidos en otras razas autóctonas. El error estándar se muestra entre corchetes.

	Mallorquina	Otras razas
Nº alelos/locus (n_a)	3,3 (0,2)	5,3 – 6,8
% loci polimórficos	90	96 – 100
Heterocigosidad Observada	0,519 (0,048)	0,475 – 0,683
Heterocigosidad esperada	0,495 (0,042)	0,554 – 0,693

Todos los loci analizados se mostraron en equilibrio Hardy-Weinberg excepto el locus MM12E6 ($p= 0,009$). Aunque la distribución de frecuencias alélicas mostró una forma de L normal (los alelos con frecuencias bajas [$<0,1$] son los más frecuentes), se observó un porcentaje de loci con exceso de heterocigotos (21) superior al esperado (15,93), esta diferencia fue significativa ($p=0,01$) cuando se utilizó el test de Wilcoxon (Cornuet y Luikart et al. 1996).

Diferenciación poblacional

Cuando se utilizó el test exacto para la diferenciación génica y genotípica, esta población mostró valores de p altamente significativos cuando se compararon las frecuencias alélicas y genotípicas con el resto de poblaciones autóctonas.

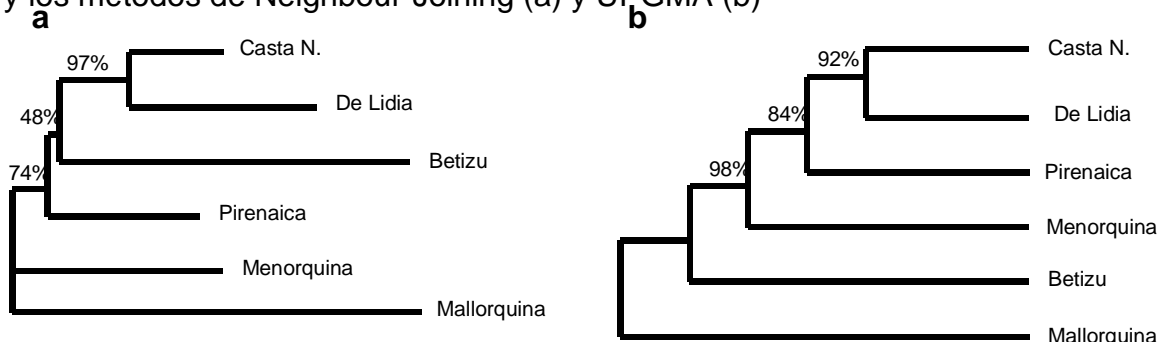
La Tabla 2 muestra los valores de D_a obtenidos entre Mallorquina y el resto de las poblaciones autóctonas. Esta población muestra los mayores valores de distancia genética, siendo la población más próxima la raza Pirenaica. Los árboles filogenéticos obtenidos con estos valores de distancia muestran a esta población claramente diferenciada del resto, siendo las razas más próximas genéticamente la Menorquina y la Pirenaica (véase Figura 1).

El tiempo de divergencia estimado entre esta raza y el resto de poblaciones autóctonas, basándonos en los valores de D_{tl} se encuentra entre 632 generaciones con la raza Pirenaica (aprox. 3250 años) y 939 con la Betizu (aprox. 4696 años).

Tabla 2: Valores de distancia D_a entre la población Mallorquina y el resto de razas autóctonas.

	Casta Nav.	Betizu	Pirenaica	De Lidia	Menorquina
Mallorquina	0,239	0,3347	0,2363	0,2750	0,2460

Figura 1: Árboles filogenéticos obtenidos a partir de los valores de distancia D_a y los métodos de Neighbour-Joining (a) y UPGMA (b)



DISCUSIÓN

Aunque esta raza muestra valores de variabilidad menores que los observados en otras razas autóctonas (n_a y porcentaje de loci polimórficos), la heterocigosidad observada fue ligeramente superior a la esperada en el equilibrio y con valores que se incluyen dentro del intervalo observado en las razas con las que se ha comparado esta población. Esto, unido al alto número de loci con exceso de heterocigotos, puede ser consecuencia de una reducción reciente del tamaño de la población.

La gran diferenciación de esta población se muestra por los altos valores de distancia genética obtenidos. Así los valores de tiempo de divergencia obtenido con el resto de las poblaciones se encuentra claramente sobrestimado. Las poblaciones más próximas genéticamente son aquellas que provienen del mismo tronco filogenético (Pirenaica y Menorquina). La reducción del tamaño efectivo de esta población, así como el aislamiento geográfico de la misma ha podido contribuir a estos valores tan elevados de diferenciación.

AGRADECIMIENTOS

C. Cons y L. Bericat por el apoyo técnico.

REFERENCIAS

- Cornuet y Luikart et al. 1996. *Genetics* 144: 2001-2014.
 Tomiuck y Loeschcke, 1991 *Evolution* 45: 1685-1694.
 Tomiuck y Loeschcke, 1995 *Heredity* 74: 607-615.
 Kantanen et al. (2000) *J Hered* 91: 446-475.
 Sneath y Sokal, 1973 *Numerical Taxonomy*. San Francisco, CA. WH Friedman & Co.
 Satiou y Nei, 1987 *Mol Biol Evol* 4: 406-425.
 Minch, 1997 *MICROSAT 1.5b* Stanford CA: Stanford University.
 Nei et al., 1983 *J Mol Evol* 19: 153-170.
 Raymond y Rousset, 1995. *J. Hered* 86.248-249.
 Swofford y Selander, 1989. *BIOSYS-1 Release 1.7*, Champaign, IL: Illinois Natural History Survey.
 Pyri et al. 1999. *J Hered* 90: 502-503.