

VARIABILIDAD GENÉTICA EN EL GANADO BOVINO CRIOLLO ARGENTINO DE ORIGEN PATAGÓNICO

GENETIC VARIABILITY IN THE ARGENTINIAN CREOLE CATTLE OF PATAGONIC ORIGIN

Martínez, R.D¹, E.N. Fernández¹, A.M. Bróccoli², A. Martínez³ y J.V. Delgado³

¹Genética Animal. Facultad de Ciencias Agrarias. U.N.L.Z. Ruta 4, km 2. 1836 Llavallol. Argentina.
E-mail: martinez@agrarias.unlz.edu.ar

²Mejoramiento Vegetal. Facultad de Ciencias Agrarias. U.N.L.Z. Ruta 4, km 2. 1836 Llavallol. Argentina.

³Departamento de Genética. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. Ed. C-5. 14071 Córdoba. España.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Microsatélites. Polimorfismo. Heterocigosidad.

ADDITIONAL KEYWORDS

Microsatellite. Polymorphism. Heterozygosity.

RESUMEN

Se realizó la genotipificación de treinta y seis (36) bovinos criollos de origen patagónico para diecisiete microsatélites del panel recomendado por FAO para la caracterización de germoplasma bovino. Para cada microsatélite se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas, el contenido de información polimórfica (PIC), el estadístico F_{IS} , el número de alelos (n_a), la heterocigosidad observada (h_o) y la heterocigosidad esperada (h_e). Los desvíos del equilibrio Hardy-Weinberg (HWE), se analizaron mediante el test exacto de Haldane. A excepción del *locus* ILSTS6 ($p < 0,01$), los *loci* restantes están en E-HW. Todos los *loci* fueron polimórficos. Los valores medios obtenidos fueron: n_a : 4,88; H_o : 0,6050, H_e : 0,6222, F_{IS} : 0,0135 y PIC: 0,60. Las mayores heterocigosidades medias esperadas (h_e) se encontraron en los *loci* CSSM66 (0,7948) y TGLA227 (0,7878), información coincidente con la obtenida para los bovinos Criollos Uruguayos del Parque Nacional de San Miguel con valores de 0,80 y 0,75 respectivamente. Los resultados denotan una importan-

te variabilidad genética en el bovino criollo patagónico.

SUMMARY

Thirty six Patagonian Creole bovines were genotyped using 17 of the STRs markers set recommended by FAO for bovine cattle germplasm characterization. Allelic and genotypic frequencies, PIC, F_{IS} statistic, allele number (n_a), observed and expected heterozygosity (h_o and H_e) were calculated for each STRs marker. Haldane exact test for measuring deviations from Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) was performed. HWE was found for every studied loci, except ILSTS6 ($p < 0.01$). Polymorphisms for all loci were verified. Means values obtained were: n_a : 4.88, h_o : 0.6050, h_e : 0.6222, F_{IS} : 0.0135 and PIC: 0.60. Higher mean expected heterozygosity values were found at loci CSSM66 (0.7948) and TGLA227 (0.7878). This information

Arch. Zootec. 54: 415-421. 2005.

MARTÍNEZ, FERNÁNDEZ, BRÓCCOLI, MARTÍNEZ Y DELGADO

was in agree with the Creole cattle of Parque Nacional San Miguel (Uruguay), with very similar values, 0.80 and 0.75 respectively for the same loci. This results suggest an important genetic variability in the Patagonian Creole cattle.

INTRODUCCIÓN

En el período prehispánico no existían bovinos en América. Los primeros bovinos ingresados a la Argentina, fueron introducidos por los colonizadores españoles en 1549 (Carrazzoni, 1998). A partir de ellos se desarrolló la raza bovina Criolla en la Argentina. Con motivo del intercambio comercial con grupos indígenas y la radicación de poblaciones humanas estables, se trasladaron bovinos Criollos hacia la Patagonia argentina. Con la introducción de las razas británicas, la raza Criolla solo se conservó en estado de pureza racial en ambientes donde las introducidas no eran productivas por su falta de adaptación al clima (Sal Paz, 1986). El bovino Criollo Argentino Patagónico, ha quedado reducido a una pequeña población asilvestrada en el Parque Nacional Los Glaciares al S.O de la Provincia de Santa Cruz a 50° de latitud sur y 72° de longitud oeste (Rodríguez y Martínez, 1992). El número actual es inferior a mil individuos y en retroceso, por lo cual este recurso genético se considera en riesgo de extinción, acrecentando su vulnerabilidad el hecho de que están ocupando un espacio declarado intangible por la Administración de Parques Nacionales. Los animales se encuentran aislados geográficamente por barreras naturales desde hace aproximadamente un siglo. Este hecho ha permitido mante-

ner la población genéticamente cerrada bajo selección natural, con un alto grado de adaptación a condiciones ambientales extremas. Lirón *et al.* (2002) observaron, como una característica importante del ganado bovino Criollo americano, un patrón genético heterogéneo, como consecuencia de la subdivisión en grupos aislados con nulo o bajo flujo génico entre ellos. Por otro lado, la variabilidad genética es el capital fundamental de cualquier población natural, ya que asegura su adaptación y su supervivencia a largo plazo (Rabasa, 1995; Aranguren Méndez, 2001).

El objetivo del trabajo es cuantificar la variabilidad genética intrapoblacional del bovino Criollo Argentino de origen Patagónico, empleando diecisiete microsatélites del conjunto recomendado por FAO.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diecisiete microsatélites, ubicados en 12 cromosomas distintos, fueron analizados en 36 animales Criollos extraídos del Parque Nacional Los Glaciares (**tabla I**). Se recogieron muestras de pelo para cada uno de ellos, que fueron identificadas y guardadas herméticamente hasta su procesamiento en el laboratorio. Luego de la extracción del ADN genómico, los microsatélites seleccionados fueron amplificados mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en el laboratorio del Departamento de Genética de la Universidad de Córdoba. Se realizaron tres reacciones Múltiplex: MI= (BM1314, CSSM66; ILST011; INRA37; ETH10);

Archivos de zootecnia vol. 54, núm. 206-207, p. 416.

VARIABILIDAD DEL BOVINO PATAGÓNICO

M2= (BM1818; BM2113; BM8125; INRA32; MM12); M3= (HAUT27; HEL13; HEL9; CSRM60; ILST006; INRA63; TGLA227). Los fragmentos amplificados se separaron mediante electroforesis en gel de poliacrilamida

(6 p.100) en secuenciador automático AB1377XL. El análisis de los fragmentos y la tipificación alélica se realizó mediante los programas informáticos Genescan Análisis 3.1.2 y Genotyper 2.5.2 respectivamente. Para

Tabla 1. *Microsatélites bovinos.* (Bovine microsatellites).

Microsatélite	Cromosoma	Iniciadores directo y reverso
BM 8125	17	CTCTATCTGTGGAAAAGGTGGG GGGGTTAGACTTCAACATACG
BM 1314	26	TTCTCTCTTCTCTCCAAC ATCTCAAACGCCAGTGTGG
BM1818	23	AGCTGGGAATATAACCAAAGG AGTGCTTTCAAGGTCCATGC
BM2113	2	GCTGCCTTCTACCAAATACCC CTTCTGAGAGAAGCAACACC
CSSM66	14	ACACAAATCCTTTCTGCCAGCTGA AATTTAATGCACTGAGGAGCTTGG
ETH10	5	GTTCCAGGACTGGCCCTGCTAACA CCTCCAGCCACTTTCTCTTCTC
ILSTS 011	14	GCTTGCTACATGGAAAGTGC CTAAAATGCAGAGCCCTACC
INRA032	11	AAACTGTATTCTCTAATAGCTAC GCAAGACATATCTCCATTCTTT
INRA037	11	GATCCTGCTTATATTTAACCAC AAAATTCCATGGAGAGAGAAAC
MM12	9	CAAGACAGGTGTTTCAATCT ATCGACTCTGGGATGATGT
CSRM60	10	AAGATGTGATCCAAGAGAGAGGCA AGGACCAGATCGTAAAGGCATAG
HAUT27	26	TTTTATGTTTCAATTTTGGACTGG AACTGCTGAAATCTCCATCTTA
HEL13	11	TAAGGACTTGAGATAAGGAG CCATCTACCTCCATCTTAAC
HEL9	8	CCCATTGAGTCTTCAGAGGT CACATCCATGTTCTCACCAC
ILSTS006	7	TGTCTGATTTCTGCTGTGG ACACGGAAGCGATCTAAACG
INRA063	18	ATTTGCACAAGCTAAATCTAACC AAACCACAGAAATGCTTGGAG
TGLA227	18	CGAATTCCAAATCTGTTAATTTGCT ACAGACAGAACTCAATGAAAGCA

Archivos de zootecnia vol. 54, núm. 206-207, p. 417.

MARTÍNEZ, FERNÁNDEZ, BRÓCCOLI, MARTÍNEZ Y DELGADO

probar la hipótesis de unión aleatoria de gametos se empleó el test exacto de Haldane (1954), utilizando el algoritmo de cadenas de Markov (Guo and Thompson, 1992) para *loci* con cuatro

o más alelos, o el método de enumeración completa para aquellos *loci* con menos de cuatro alelos (Louis and Dempster, 1987). La correlación entre gametos dentro de individuos en la

Tabla II. Frecuencias alélicas. Entre paréntesis figura el número de cada variante. (Allelic frequencies. Number of each variant between brackets).

Locus	variantes alélicas							
	1	2	3	4	5	6	7	8
BM8125	0,6528 (116)	0,1528 (118)	0,1944 (122)					
BM1314	0,0972 (157)	0,5972 (159)	0,222 (161)	0,0833 (169)				
BM1818	0,1667 (256)	0,6667 (260)	0,1528 (264)	0,0139 (268)				
BM2113	0,0833 (126)	0,3333 (134)	0,4861 (136)	0,0833 (138)	0,0139 (140)			
CSSM66	0,1250 (179)	0,1944 (181)	0,2778 (183)	0,0417 (185)	0,0278 (187)	0,2639 (189)	0,0278 (193)	0,0417 (197)
ETH10	0,2917 (215)	0,1111 (217)	0,5139 (219)	0,0833 (221)				
ILSTS011	0,1735 (268)	0,2794 (270)	0,5441 (272)					
INRA32	0,0500 (176)	0,3167 (178)	0,4000 (180)	0,1167 (182)	0,1167 (184)			
INRA37	0,0139 (128)	0,0147 (130)	0,4167 (132)	0,4444 (134)	0,0833 (136)			
MM12	0,2361 (115)	0,1528 (119)	0,0556 (121)	0,5556 (131)				
CSRM60	0,4861 (93)	0,0417 (97)	0,4306 (103)	0,0417 (105)				
HAUT27	0,0441 (142)	0,0147 (144)	0,2353 (146)	0,0441 (148)	0,1618 (150)	0,0147 (152)	0,1765 (154)	0,3088 (156)
HEL13	0,0694 (188)	0,0139 (190)	0,9028 (192)	0,0139 (198)				
HEL9	0,0694 (151)	0,0417 (153)	0,0139 (159)	0,5278 (161)	0,2500 (163)	0,0833 (165)	0,0139 (175)	
ILSTS6	0,1667 (289)	0,1944 (291)	0,0972 (293)	0,1806 (295)	0,3611 (297)			
INRA63	0,4306 (173)	0,2361 (175)	0,3333 (181)					
TGLA227	0,0417 (083)	0,2778 (085)	0,0833 (089)	0,0694 (091)	0,1528 (093)	0,0639 (095)	0,3056 (099)	

Archivos de zootecnia vol. 54, núm. 206-207, p. 418.

VARIABILIDAD DEL BOVINO PATAGÓNICO

subpoblación fue evaluada mediante el estadístico Fis (Weir and Cockerham, 1984). La variabilidad genética fue analizada considerando el número de alelos por *locus* (n_a), la heterocigosidad observada (h_o) y esperada (h_e) para cada *locus* y la heterocigosidad media observada (H_o) y esperada (H_e). Para realizar los análisis se utilizó el programa GENPOP v 3.1c. Adicionalmente, se calculó el contenido de información polimórfica (PIC) según la fórmula de Botstein *et al.* (1980), empleando una hoja de cálculo EXCEL.

RESULTADOS

El número de alelos por *locus* (n_a) varió entre ocho para los microsatélites CSSM66 y HAUT27 y tres para los *loci* BM8125; ILSTS011 e INRA63, con una media de 4,88 alelos por *locus*. Ninguno de los microsatélites mostró

variantes con frecuencias superiores a 0,95, por lo cual los diecisiete marcadores pueden considerarse polimórficos. Las variantes con menor frecuencia (0,0139), corresponden al *locus* BM1818 (268); BM2113 (140); INRA37 (128); HEL13 (190 y 198); HEL9 (159 y 175) (**tabla II**). Todos los microsatélites mostraron equilibrio H-W, con excepción del ILSTS6 que mostró diferencias significativas entre las frecuencias genotípicas observadas y esperadas.

Los valores de heterocigosidad media esperada (H_e) y heterocigosidad media observada (H_o) fueron de 0,6222 y 0,6050 respectivamente. El valor máximo de (h_e) corresponde al *locus* CSSM66 (0,7948) y el mínimo al HEL13 (0,1798), en el que la variante 192 presentó la mayor frecuencia (0,9028). Existe una alta asociación lineal entre (h_e) y (h_o) ($r = 0,91$), siendo los *loci* BM8125 ($Fis = -0,233$),

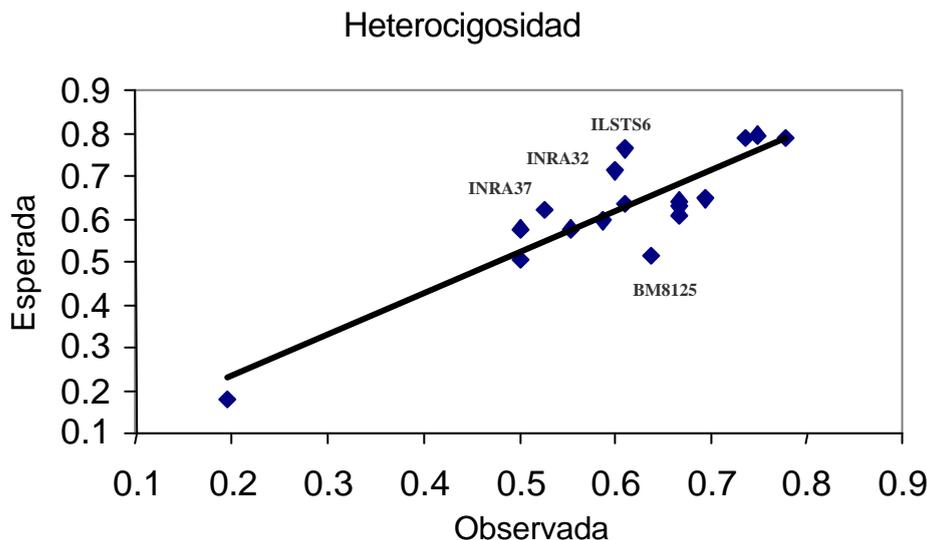


Figura 1. Asociación entre H_e y H_o . (Association between H_e and H_o).

MARTÍNEZ, FERNÁNDEZ, BRÓCCOLI, MARTÍNEZ Y DELGADO

INRA32 (Fis= 0,171), INRA37 (Fis= 0,162) y el ILSTS6 (Fis= 0,211) los que mostraron mayor diferencia entre los valores observados y esperados (**figura 1**). El F_{IS} multilocus medio fue de 0,0135 (**tabla III**). En relación al PIC, se observa una media de 0,60 y valores extremos de 0,87 (HAUT27) y 0,17 (HEL13).

DISCUSIÓN

Los valores medios de heterocigosidad obtenidos para el Criollo Patagónico están en el rango de los valores hallados en varias razas europeas (Moazami-Goudarzi *et al.*, 1997;

Zamorano, 1998; Cañón *et al.* 2001). Las mayores se encontraron en los *loci* CSSM66 (0,7948) y TGLA227 (0,7878), valores coincidentes con el bovino Criollo Uruguayo conservado en el Parque Nacional San Miguel (0,80) y (0,75) respectivamente (Armstrong *et al.*, 2004). Sin embargo en el Criollo Uruguayo, para CSSM66 la variante 187 resultó la más frecuente, mientras que en el Patagónico fue la menos frecuente. Esta diferencia podría obedecer a un proceso dispersivo. La mayor frecuencia alélica en ambas poblaciones (Uruguay y Patagónica) corresponde a la variante 192 del *locus* HEL13 (0,8333 y 0,9028). En el Criollo Brasileño los *locus* TGLA227 y MM12

Tabla III. Parámetros genéticos moleculares. (Molecular genetic parameters).

Locus	n_a	Nro Hets	Nro Homs	h(o)	h(e)	Fis	PIC	HW
BM8125	3	23	13	0,6389	0,5127	-0,233	0,46	NS
BM1314	4	18	18	0,5000	0,5775	0,148	0,53	NS
BM1818	4	18	18	0,5000	0,5042	0,022	0,46	NS
BM2113	5	22	14	0,6111	0,6385	0,057	0,58	NS
CSSM66	8	27	9	0,7500	0,7948	0,070	0,77	NS
ETH10	4	24	12	0,6667	0,6316	-0,042	0,57	NS
ILSTS011	3	20	14	0,5882	0,5947	0,026	0,53	NS
INRA32	5	18	12	0,60	0,7100	0,171	0,66	NS
INRA37	5	19	17	0,5278	0,6200	0,162	0,54	NS
MM12	4	24	12	0,6667	0,6092	-0,080	0,56	NS
CSRM60	4	20	16	0,5556	0,5748	0,048	0,86	NS
HAUT27	8	25	9	0,7353	0,7876	0,081	0,87	NS
HEL13	4	7	29	0,1944	0,1798	-0,068	0,17	NS
HEL9	7	24	12	0,6667	0,6451	-0,019	0,60	NS
ILSTS6	5	22	14	0,6111	0,7620	0,211	0,73	**
INRA63	3	25	11	0,6944	0,6478	-0,058	0,57	NS
TGLA227	7	28	8	0,7778	0,7878	0,027	0,76	NS
MEDIAS	4,88	21,41	14,59	0,6050	0,6222	0,0135	0,60	

n_a = Número de alelos por *loci*; Nro. Hets= Número de individuos heterocigotos observados; Nro. Homs= Número de individuos homocigotos observados; h(o)= Heterocigosis observada; h(e)= Heterocigosis esperada; PIC= Contenido de información polimórfica.

Archivos de zootecnia vol. 54, núm. 206-207, p. 420.

VARIABILIDAD DEL BOVINO PATAGÓNICO

mostraron un n_a de 12 y 11 (Steigleder *et al.*, 2004), mientras que en el Patagónico los valores fueron de 7 y 4 respectivamente, diferencia probablemente debida al mayor número de animales analizados en la población brasileña.

Si bien el bovino Criollo Patagónico se mantuvo aislado por más de veinte

generaciones, manifiesta una importante variabilidad genética y baja consanguinidad (Fis multilocus= 0,0135). Los parámetros de diversidad intrapoblacional presentados en este trabajo, constituyen un herramienta a tener en cuenta en el desarrollo de estrategias apropiadas para la conservación del recurso.

BIBLIOGRAFÍA

- Aranguren-Méndez, J.A, J. Jordana y M. Gómez. 2001. Relaciones genéticas entre razas asnales españolas a partir del análisis de marcadores microsatélite. Resúmenes IX Jornadas Españolas de Producción Animal AIDA. www.dcam.upv.es/acteon.
- Armstrong, E., A. Postiglioni, A. Martínez, G. Rincón y L. Kelly. 2004. Reserva genética de bovinos Criollos del Parque Nacional de San Miguel. I Análisis genético de toros con microsatélites. *Revista Veterinaria* (Montevideo) 39: 33-38.
- Botstein, D., R. White, M. Skolnik and R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32: 314-331.
- Cañón, J., P. Alexandrino, I. Bessa, C. Carleos, Y. Carretero, S. Dunner, N. Ferran, D. Garcia, J. Jordana, D. Laloe, A. Pereira, A. Sanchez y K. Mouzami-Goudarzi. 2001. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. *Genet. Sel. Evol.*, 33: 311-332.
- Carranzoni, J. 1998. El bovino Criollo. *Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria* LII: 1-53.
- Guo, S.W. and E.A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics*, 48: 361-372.
- Haldane, J.B.S. 1954. The biochemistry of genetic. Evolution as a process (Huxley J. *et al.* eds). P. 109 London: George Allen & Unwin Ltd.
- Lirón, J.P., M.V. Ripoli, J.C. De Luca, P. Peral-García and G. Giovambattista. 2002. Analysis of genetic diversity and populations structure in Argentine and Bolivian Creole cattle using five loci related to milk production. *Genetics and Molecular Biology*, 25: 413-419.
- Moazami-Goudarzi, K., D. Laloe, J.P. Furet and F. Grosclaude. 1997. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics*, 28: 338-345.
- Rabasa Sol, A. 1995. Selección del ganado bovino criollo. XII Jornadas de Ganado Bovino Criollo. Jesús María Córdoba.
- Rodríguez, C.A y R.D. Martínez. 1992. Bovino Criollo Argentino Patagónico. *Animal Genetic Resources Information* (FAO), 9: 27-31.
- Sal Paz, F. 1986. El bovino Criollo Argentino: historia, características y productividad. En: Ganado bovino Criollo. Editorial Orientación Gráfica Editora. Pag. 3-7.
- Steigleder, C.S., E.A Almeida and T.A. Weimer. 2004. Genetic diversity of a Brazilian Creole cattle based on fourteen microsatellite loci. *Arch. Zootec.*, 53: 3-11.
- Weir, B.S. and C.C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38: 1358-1370.
- Zamorano, M.J., J. Ruitter, A. Rodero y J.L Vega-Pla. 1998. Análisis genético de marcadores microsatélites en dos poblaciones de la raza bovina Berrendo en Negro. *Arch. Zootec.*, 47: 195-200.

Archivos de zootecnia vol. 54, núm. 206-207, p. 421.