

POSTER

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE GANADO BOVINO CRIOLLO ARGENTINO UTILIZANDO MICROSATÉLITES

GENETIC CHARACTERISATION OF BOVINO CRIOLLO ARGENTINO CATTLE USING MICROSATELLITES

Zamorano, M.J.¹, E.R. Género², A. Rodero¹, J.L. Vega-Pla³ y F.J. Rumiano².

¹Departamento de Genética. Facultad de Veterinaria. Avenida de Medina Azahara s/n. 14005-Córdoba. España.

²Departamento de Genética. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Universidad Nacional Lomas de Zamora. Ruta 4, km 2 Llarallol, 1836 Buenos Aires. Argentina.

³Laboratorio de Grupos Sanguíneos. Servicio de Cría Caballar. Apartado Oficial Sucursal 2. 14071-Córdoba. España.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Recursos genéticos. DNA. PCR. Heterocigosidad.

ADDITIONAL KEYWORDS

Genetic resources. DNA. PCR. Heterocigosity.

RESUMEN

Se caracteriza una muestra de ganado Bovino Criollo Argentino con un panel de ocho microsatélites. Se detecta un número de alelos entre 2 y 7. Los valores de Heterocigosidad por *locus* están entre 0,46 para HEL-1 y 0,72 para BM-1824, la Heterocigosidad media es de 0,58.

SUMMARY

It is characterized a sample of Bovino Criollo Argentino cattle with a panel of eight microsatellites. It is detected a number of alleles between 2 and 7. The values of Heterocigosity by locus are between 0.46 for HEL-1 and 0.72 for BM-1824 and the mean of Heterocigosity is 0.58.

INTRODUCCIÓN

El Bovino Criollo Argentino es el

resultado de varios cientos de años de selección natural sobre un abanico de razas con un importante tamaño efectivo de población fundadora. Está considerado como descendiente directo del ganado *tipo ibérico* llevado por los españoles a zonas territoriales de lo que hoy es Argentina y otros países Iberoamericanos. Alderson (1989) señala que esta raza podría tener sus ascendientes en la raza Berrenda en Negro y Quinteros *et al.* (1980) afirman que aún conserva un gran primitivismo. Hay una población que fue llevada a la Patagonia por terratenientes de la zona con ayuda de los indios Tehuelches. Actualmente muchas de estas propiedades constituyen el actual sistema de Parques Nacionales donde este ganado se ha mantenido

Arch. Zootec. 47: 273-277. 1998.

asilvestrado. En la década de los 80 pesaba una orden de exterminio de esta población por considerarlo no autóctono, aunque esta orden fue revocada posteriormente. En los inicios de los 90 comienzan a conformarse cabañas fuera de los parques pero se controla su manejo mediante un convenio entre la Asociación Argentina de Ganado Criollo y la Universidad de Lomas. Uno de los principios en que se basa este control es que los apareamientos de la raza tienen que ser lo menos dirigidos posible, y no debe de haber patrones de selección artificial.

Hay un gran afán por parte de la Asociación citada y la Universidad de Lomas para elaborar planes de conservación de recursos genéticos que permitan mantener las poblaciones actuales en estado de pureza evitando la influencia de las razas de alta producción.

Una de las herramientas de que se dispone para la investigación genética es la caracterización de microsatélites del DNA. Se trata de secuencias que

presentan, por lo general, un elevado polimorfismo y que proporcionan gran información de la diversidad genética, tanto dentro de poblaciones como entre ellas.

La justificación de este trabajo se debe al interés en contribuir a un conocimiento genético más amplio de la raza Bovino Criollo Argentino y al establecimiento de una base que permita la comparación de la misma con otras razas actuales cuyos ancestros pudieron haber participado en su origen.

El objetivo es caracterizar una muestra de ejemplares de esta raza con un panel de ocho microsatélites. Calcular las frecuencias alélicas, heterocigosidad por *locus* y media de la heterocigosidad, de forma que permita comparar dicha información con la obtenida en otras poblaciones bovinas con los mismos marcadores genéticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se tipifican 34 individuos de raza Bovino Criollo Argentino procedentes

Tabla I. *Microsatélites de ganado vacuno.* (Cattle microsatellites).

Denominación	Cebadores directo y reverso	Tamaño	Referencias
BM.4621	CAAATTGACTTATCCTTGGCTGTGTAACATATGGGCTGCATC	140-160	Bishop <i>et al.</i> , 1994
ETH225	GATCACCTTGCCACTATTTTCCTACATGACAGCCAGCTGCTGCTACT	140-156	Fries <i>et al.</i> , 1993
HEL5	GCAGGATCACTTGTAGGGAAGACGTTAGTGACATTAAC	161	Kaukinen <i>et al.</i> , 1993
HEL1	CAACAGCTATTTAACAAGGAAGGCTACAGTCCATGGGATT	110-102	Kaukinen <i>et al.</i> , 1993
BM1824	GAGCAAGGTGTTTTCCAATCCATTCTCCAAGTCTTCCTTG	178-190	Bishop <i>et al.</i> , 1994
ILSTS005	GGAAGCAATGAAATCTATAGCCGTTCTGTGAGTTTGTAAAGC	181-187	Brezinsky <i>et al.</i> , 1993
ETH152	TACTCGTAGGGCAGGCTGCCTG GAGACCTCAGGGTTGGTGATCAG	198-204	Fries <i>et al.</i> , 1993
BM-143	ACCTGGGAAGCCTCCATATCCTGCAGGCAGATTCTTTATCG	90-120	Bishop <i>et al.</i> , 1994

TIPIFICACIÓN DE MICROSATÉLITES EN GANADO BOVINO CRIOLLO ARGENTINO

de Lomas de Zamora (Argentina) seleccionados al azar.

Los ocho marcadores que se investigan (**tabla I**) se encuentran dentro de los recomendados por el grupo de expertos de la Sociedad Internacional de Genética Animal para la caracterización de razas bovinas.

Se procede a la extracción de DNA a partir del folículo piloso mediante una digestión de las proteínas con la enzima Proteinasa K y una purificación con fenol-cloroformo, utilizando para ello el protocolo del Laboratorio del Institute of Zoology de Londres.

Cada uno de los microsatélites seleccionados para el estudio han sido evidenciados mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) descrita por Saiki *et al.*, en 1985. Se lleva a cabo mediante un termociclador MJ Research® en un volumen final de 25 ml con dATP, dGTP, dCTP y dTTP 25mM cada uno, cebadores directo y reverso específicos de cada *locus* 0,4mM, Taq DNA

polimerasa (1U/reacción) en un tampón MgCl₂ 25mM, KCl 50mM, Tris-HCl a pH 9,0 10mM, Triton X-100 0,1 p.100 y 50 ng de DNA purificado. Se somete la reacción a 35 ciclos con una fase de desnaturalización de 30seg a 94°C, otra fase de acoplamiento de cebadores de 30seg a 55°C y una tercera fase de síntesis de 30seg a 72°C cada uno.

Posteriormente se someten los productos de la amplificación a una electroforesis en gel de poliacrilamida (19:1) desnaturalizante (Urea 8M), y se tiñe con plata según el protocolo de Vega-Pla (1996).

Se calculan los tamaños de los alelos mediante el ajuste a una curva de regresión desarrollada a partir de las distancias de migración de fragmentos de talla conocida.

Para el cálculo de las frecuencias alélicas se procede al recuento directo de los alelos y como medida de la variabilidad se calcula el grado de heterocigosis mediante la fórmula pro-

Tabla II. Alelos (A) y frecuencias alélicas (f) en 8 microsatélites en una muestra de Bovino Criollo Argentino. (Alleles and Alelic frequencies in 8 microsatellites in a Bovino Criollo Argentino sample).

ILSTS005		ETH-225		ETH-152		BM-143		BM-4621		BM-1824		HEL-1		HEL-5	
A	f	A	f	A	f	A	f	A	f	A	f	A	f	A	f
183	0,5	143	0,53	198	0,18	93	0,07	140	0,28	180	0,24	102	0,60	154	0,01
185	0,5	149	0,10	200	0,60	105	0,55	146	0,10	182	0,13	110	0,12	156	0,60
		151	0,21	202	0,15	107	0,01	148	0,62	184	0,35	112	0,28	162	0,24
		153	0,16	204	0,07	113	0,06			190	0,28			164	0,11
						115	0,15							166	0,01
						117	0,01							168	0,03
						119	0,15								

Tabla III. Heterocigosidad por locus (H) en 8 microsatélites en una muestra de Bovino Criollo Argentino. (Heterocigosity (H) in 8 microsatellites in a Bovino Criollo Argentino sample).

	ILSTS005	ETH-225	ETH-152	BM-143	BM-4621	BM-1824	HEL-1	HEL-5
H	0,50	0,64	0,58	0,67	0,53	0,72	0,46	0,57

puesta por Nei y Roychoudhry (1974).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **tabla II** se recogen las frecuencias alélicas obtenidas para los diferentes marcadores y en la **tabla III** las heterocigosidades por marcador. Se observa que en todos los casos se detecta polimorfismo. Hay que destacar que el microsatélite BM-143 presenta siete alelos pero no tiene el mayor grado de heterocigosidad, sin embargo el sistema BM-1824 con sólo cuatro alelos supera ligeramente la heterocigosidad calculada para el sistema citado anteriormente; esto se debe a que los sistemas más informativos son aquellos que teniendo un número suficiente de alelos poseen además sus frecuencias equilibradas, así, aún siendo menor el número de alelos, un marcador puede tener mayor valor de heterocigosidad. Algo similar ocurre, en el extremo opuesto, para los sistemas ILSTS005 y HEL-1.

Hemos encontrado el mismo número de alelos en los marcadores ILSTS005, ETH-225 y BM-1824 en estudios realizados en la raza bovina Berrendo en Negro por Zamorano *et al.* (1997). Los microsatélites BM-143 y HEL-5 mostraron mayor polimorfismo en la población de ganado criollo

que en la anteriormente citada, mientras que los marcadores ETH-152, BM-4621 y HEL-1 presentaron menor número de alelos.

Brezinsky *et al.* (1993) estudian el microsatélite ILSTS005 para el que describen 4 alelos y Arranz (1996) encuentra sólo dos en muestras de las razas Avileña, Negra-Ibérica y Sayaguesa. No se han encontrado datos de frecuencias alélicas en otras razas bovinas españolas para el resto de marcadores.

La heterocigosis media de la muestra calculada a partir de las heterocigosidades por sistema es de 0,58 y como medida de la variabilidad genética, tiene un valor medio comparada con los estudios realizados por Bates *et al.* (1996) en un total de 22 microsatélites, cuyos valores están comprendidos entre 0,47 y 0,80 en trece razas evaluadas. Y muy similar al estimado por Zamorano *et al.* (1997) en la raza Berrendo en Negro con 15 marcadores que resultó ser de 0,6.

Estos resultados permiten concluir que los microsatélites seleccionados contribuyen al conocimiento genético de la raza Bovino Criollo Argentino en igual medida que lo hacen en otras razas y su utilidad se verá incrementada cuando se tipifiquen otras poblaciones con estos mismos marcadores que permitan efectuar pruebas comparativas.

TIPIFICACIÓN DE MICROSATÉLITES EN GANADO BOVINO CRIOLLO ARGENTINO

BIBLIOGRAFÍA

- Alderson L., 1989. The Chance to survive. A.H. Jolly Ltd (edit) Northamptonshire.
- Arranz, J.J. 1994. Tesis Doctoral. Universidad de León.
- Bates, S., C. Peterson-Knabe, T. Holm, H. Van Haeringen, K. Lange, J. Ziegler *et al.* 1996. Exclusion probabilities of 22 bovine microsatellite markers in fluorescent multiplexes for automated parentage verification. PE Applied Biosystems.
- Bishop, M.D., S.M. Kappes, J.W. Keele, R.T. Stone, S.L.F. Sunden, H.A. Gregory *et al.* 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics*, 136: 619-639.
- Brezinsky, L., S.J. Kemp and A.J. Teale. 1993. ISTS005: a polymorphic bovine microsatellite. *Animal Genetics*, 24: 73.
- Kaukinen, J. and S.L. Varvio. 1993. Eight polymorphic bovine microsatellites. *Animal Genetics*, 24: 148.
- Nei, M. and A.K. Roychoudhry. 1974. Sampling variance of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*, 76: 379-390.
- Quinteros, I.R., W.S. Miller, E.D. Tejada, M.A. Poli and A.A. Ruiz. 1980. Investigaciones inmunogenéticas en el bovino Criollo Argentino-Marcadores genéticos. *Analecta Veterinaria*, XII: 37-60.
- Saiki, R.K., D.H. Gelfand, S. Stoffel, S.J. Scharf, R. Higuchi, G.T. Horn, *et al.* 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239: 487-491.
- Vega-Pla, J.L. 1996. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
- Zamorano, M.J., J. Rüter, A. Rodero y J.L. Vega-Pla. 1997. I Congreso Nacional de la Sociedad Española de Recursos Genéticos Animales. Córdoba. Diciembre. 1997.