

ESTRUCTURA Y VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA RAZA BOVINA CASTA NAVARRA

STRUCTURE AND GENETIC VARIABILITY OF CASTA NAVARRA

Diversidad de la Casta Navarra

Sanz A.¹, Cons C.¹, Rodellar C.¹, Reta M.², Martín-Burriel I.¹ y Zaragoza P.^{1*}¹Laboratorio de Genética Bioquímica (LAGENBIO). Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. *pilarzar@unizar.es²Instituto Técnico y de Gestión Ganadera Navarra, S.A., Carretera del Sadar, s/n. Ed. El Sarrio 2a, 31006 Pamplona, Spain.**Abstract**

Casta Navarra (CN) belongs to the most ancient *Castas Fundacionales* of the Lidia breed, consisting of a bovine group endowed with great fighting spirit. By their behavior, the most important business of this fighting bull population is the sale or rental of animals for popular events, then the conservation of this fighting bull population has a high social and economic impact. This work examines the variability and genetic structure of the Casta Navarra and their phylogenetic relationships with Toro de Lidia, Pirenaica and Monchina breeds, populations that could have influenced Casta Navarra. Using 30 microsatellites we analyzed 992 individuals belonging to 16 farms spread across northern Spain. The Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) analysis in the total population showed a 89% of *loci* with significant departure from HWE due to heterozygote deficit as a consequence of the Wahlund effect. Analyzing the HWE by farms only between 0 and 5 *loci* were in disequilibrium, with very similar expected and observed heterozygosity values. *F* statistics calculations were in accordance with the previous results showing a fixation index (F_{ST}) of 0.09 (the average proportion of genetic variation explained by farm differences was 9%). The analysis of genetic equilibrium and *F* statistics indicated that Casta Navarra is divided into distinct and reproductively isolated subpopulations. Differences between herds were confirmed by the study of genetic distances and using the STRUCTURE program. The population of Casta Navarra was subdivided with *K* values lower than 8, being *K*=8 the minimal number of clusters that differentiated Toro de Lidia from Pirenaica and Monchina. The different farms grouped according to historical information. The results obtained can contribute to the development of actions aimed at promoting diversity of race and therefore its maintenance, as part of conserving our cultural heritage.

Palabras clave:

Diversidad
genética
Toro de Lidia
Microsatélites
Efecto Wahlund

Keywords:

Genetic diversity
Fighting bull
Microsatellites
Wahlund effect

Resumen

La raza Casta Navarra (CN) es la más antigua de las Castas Fundacionales de la actual raza de Lidia, constituida por una agrupación bovina dotada de gran rusticidad y bravura. Por su comportamiento, la actividad comercial más importante de esta raza es la venta o alquiler de ejemplares para los festejos populares, por lo que el mantenimiento de estos animales presenta una gran repercusión económica y social. En este trabajo se analiza la variabilidad y estructura genética de la Casta Navarra y sus relaciones filogenéticas con las razas de Lidia, Pirenaica y Monchina, poblaciones que han podido tener influencia en CN. En el estudio se analizaron 992 individuos pertenecientes a 16 ganaderías distribuidas por el norte de España, mediante el análisis de 30 marcadores microsatélites. A partir del análisis del Equilibrio Hardy-Weinberg (EHW) en el conjunto de CN, se encontró que el 89% de los *loci* analizados estaban en desequilibrio debido a un defecto de heterocigotos provocado por el efecto Wahlund. Al analizar el EHW para las diferentes ganaderías solo se observaron entre 0 y 5 *loci* en desequilibrio con valores de heterocigosidad esperados y observados muy similares. El análisis de los *F* estadísticos para el conjunto total de las ganaderías corroboró los resultados, obteniendo un índice de fijación (F_{ST}) del 0,09 (el 9% de la variabilidad total se explica por las diferencias entre ganaderías). Los análisis del equilibrio genético y de los *F* estadísticos indicaron que la población de Casta Navarra está dividida en subpoblaciones diferenciadas entre sí y aisladas reproductivamente. Las diferencias entre ganaderías se confirmaron mediante el estudio de distancias genéticas y con el programa STRUCTURE. Las subpoblaciones

de Casta Navarra se diferenciaron con valores de K menores que 8, que resultó ser el número mínimo de clústeres que permitía diferenciar la población de Toro de Lidia de Monchina y Pirenaica. Las distintas ganaderías se agruparon genéticamente de acuerdo a la información histórica de su origen. Los resultados obtenidos pueden contribuir al establecimiento de actuaciones dirigidas a potenciar la diversidad de la raza y por tanto a su mantenimiento, como parte de la conservación de nuestro patrimonio cultural.

Introducción

Casta Navarra (CN) pertenece a las más antiguas Castas Fundacionales de la raza de Lidia (Rodríguez Montesinos 2002), pero sus individuos han evolucionado a lo largo de los siglos muy independientemente del resto de troncos de Lidia, lo que ha originado rasgos étnicos muy diferentes. Esta población está constituida por animales dotados de gran rusticidad y bravura, cuya actividad comercial más importante es la venta o alquiler de ejemplares por su comportamiento, para los festejos populares. En la actualidad el número de efectivos representa un número insuficiente para que la raza se encuentre libre de desaparecer en un futuro no muy lejano. Estudiando la diversidad y estructura genética de esta población se pueden definir prioridades en la conservación de esta población como parte del patrimonio cultural.

Material y métodos

Se obtuvieron un total de 992 muestras de sangre de individuos de Casta Navarra pertenecientes a 16 ganaderías distribuidas por el norte de España. El DNA se obtuvo usando el método semiautomático ABI PRISM 6100 Nucleic Acid PrepStation (*Applied Biosystems*) siguiendo los protocolos del fabricante. Además se utilizaron 50 muestras de cada una de las razas de Lidia, Pirenaica y Monchina como controles para el estudio de las relaciones filogenéticas de Casta Navarra con esas poblaciones.

Se analizaron 30 microsatélites seleccionados por la FAO para la caracterización de poblaciones bovinas mediante tres reacciones múltiplex de PCR y posterior separación de los fragmentos mediante electroforesis capilar en un secuenciador automático ABI Prism 3130. La interpretación de los genotipos se realizó usando el programa GeneMapper v3.7 Software (*Applied Biosystems*).

Las frecuencias alélicas, heterocigosidades y las desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg (EHW) fueron calculadas con el programa GENEPOP (Raymond & Rousset 1995). Los F estadísticos se calcularon usando el programa FSTAT (Goudet 2001). Las relaciones genéticas se investigaron mediante la distancia genética de Reynolds (Reynolds et al. 1983) usando el programa Populations 1.2.30 (Langella 1999). Con el mismo programa se construyó el árbol Neighbor-Joining (NJ) a partir de los valores de distancia y se visualizó con el programa TreeView (Page 1996). El programa STRUCTURE (Pritchard et al. 2000; Falush et al. 2003, 2007) se utilizó para investigar la estructura de la población, se utilizó un periodo de burn-in de 100000 repeticiones y otras 100000 repeticiones en el método MCMC (Monte Carlo de cadenas de Markov) antes de recopilar resultados para $1 < K < 21$.

Resultados y discusión

Se detectaron 192 alelos mediante el análisis de 28 microsatélites (TGLA53 e INRA35 fueron excluidos del estudio por la dificultad para leer los genotipos y por la presencia de alelos nulos). Utilizando un test exacto para el análisis del EHW en el conjunto de animales, se encontró que un 89% de los *loci* analizados se encontraban en desequilibrio debido a un defecto de heterocigotos. Los análisis por ganaderías mostraron un número mucho menor de *loci* en desequilibrio (entre 0 y 5 *loci*) y valores de heterocigosidad esperados y observados muy similares (Tabla I). La consanguinidad fue baja ($F_{IS} = -0,0052$) mientras que el índice de fijación F_{ST} que evalúa el efecto de la subdivisión en la pérdida de variabilidad fue de 0,09 (el 9% de la variabilidad total se explica por las diferencias entre ganaderías), similar al observado en los análisis de distintas razas bovinas españolas (Martin-Burriel et al. 2007). Por tanto, los análisis del equilibrio genético y de los F estadísticos indicaron que la población de Casta Navarra, al igual que ocurre con la población de Lidia (Canon et al. 2008), está dividida en subpoblaciones diferenciadas entre sí y aisladas reproductivamente.

La Figura 1 muestra el árbol filogenético que permite diferenciar las distintas ganaderías de CN con de Lidia, Pirenaica y Monchina, además las ganaderías se agruparon de acuerdo a la historia conocida de las mismas. Con el programa STRUCTURE se testó la presencia del número de poblaciones presentes en el estudio, determinándose $K=8$ como el número mínimo de clústeres necesarios para diferenciar la población de Lidia de las poblaciones de carne Pirenaica y Monchina. Las ganaderías de Casta Navarra se diferenciaron a menores valores de K , y con $K > 8$ las ganaderías se subdividían, mientras que Pirenaica y Monchina continuaban

apareciendo en el mismo clúster. En la Figura 2 se muestra una representación gráfica de la estructura genética de la población de Casta Navarra. Se observa claramente como los animales de Casta Navarra se distribuyeron en 6 grupos que se correspondían con la información histórica disponible; siendo Gabas, Nogué, Galé y Supervía las antiguas ganaderías navarras de las que provienen las actuales poblaciones y Casas los animales provenientes de ganaderías aragonesas. Los resultados obtenidos en este trabajo pueden contribuir al desarrollo de acciones dirigidas a promover la diversidad y la conservación de esta raza evitando el aumento de consanguinidad.

Tabla I. Caracterización genética de 16 ganaderías de Casta Navarra. Origen histórico y número de individuos (N) por ganadería. Ganaderías que mostraron desviación significativa del equilibrio usando 28 loci (* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001). Número de loci en desequilibrio genético, valores medios de heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He) en el equilibrio y de coeficiente de consanguinidad (F_{IS}). [Genetic characterization of 16 Casta Navarra herds. Historical origins and number of individuals per herd (N). Herds showing significant deviation from HWE estimated with 28 loci (* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001). Number of loci showing genetic disequilibrium, observed (Ho) and expected (He) heterozygosities and inbreeding coefficient (F_{IS})]

Origen	Ganaderías	N	Loci desequilibrio	Ho	He	F _{IS}
Gabas	Gan 4	206	4	0,604	0,614	-0,017
Casas	Gan 1*	73	5	0,663	0,682	-0,024
	Gan 8***	76	1	0,658	0,649	0,013
Supervía	Gan 3	72	2	0,621	0,624	-0,002
	Gan 9*	45	4	0,665	0,679	-0,012
Galé	Gan 5*	82	4	0,653	0,642	0,018
	Gan 6	34	2	0,648	0,664	-0,035
	Gan 10**	72	4	0,639	0,640	0,005
Nogué	Gan 7	90	2	0,632	0,637	-0,005
	Gan 2	18	2	0,628	0,661	-0,047
	Gan 11	33	3	0,639	0,654	-0,018
	Gan 12	60	0	0,653	0,660	-0,013
	Gan 13	15	0	0,647	0,606	0,065
	Gan 14	19	1	0,622	0,598	0,039
	Gan 15**	52	4	0,689	0,672	0,021
	Gan 16	45	1	0,634	0,635	0,004
CN total		992	25	0,643	0,696	-0.0052

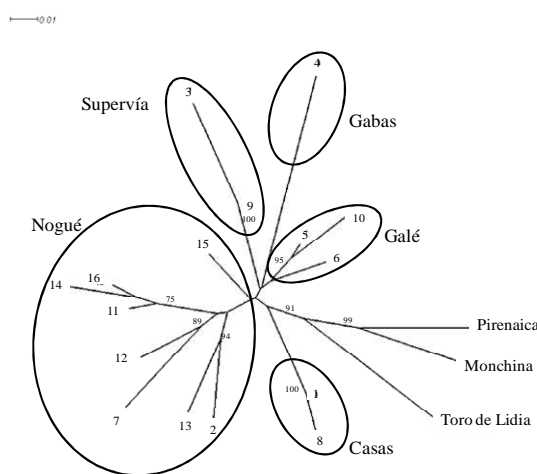


Figura 1. Árbol filogenético construido a partir de los valores de distancias genéticas de Reynolds y el algoritmo Neighbor-Joining. Relación de las ganaderías de Casta Navarra y las poblaciones de Toro de Lidia,

Pirenaica y Monchina. [*Neighbor-Joining tree based on Reynolds genetic distances showing the phylogenetic relationships of the Casta Navarra farms and Pirenaica, Monchina and Toro de Lidia breeds*]

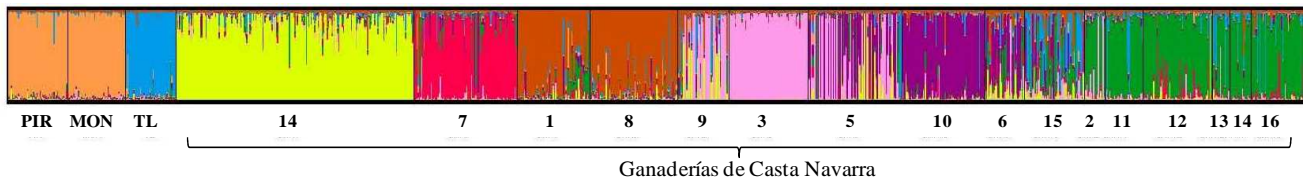


Figura 2. Representación gráfica de la estructura genética de las poblaciones Pirenaica (PIR), Monchina (MON), Toro de Lidia (TL) y las 16 ganaderías de Casta Navarra [*Graphical representation of the genetic structure of Pirenaica (PIR), Monchina (MON), Toro de Lidia (TL) and the 16 Casta Navarra herds*]

Conclusiones

El estudio de la estructura genética de Casta Navarra ha mostrado que la población está subdividida de acuerdo al origen histórico de las actuales ganaderías. A pesar de esta subdivisión las ganaderías mantienen bajos índices de consanguinidad y están diferenciadas de la población de Lidia usada como control.

Bibliografía

- Canon J., Tupac-Yupanqui I., Garcia-Atance M.A., Cortes O., Garcia D., Fernandez J. & Dunner S. (2008) Genetic variation within the Lidia bovine breed. *Anim Genet* 39, 439-45.
- Falush D., Stephens M. & Pritchard J.K. (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164, 1567-87.
- Falush D., Stephens M. & Pritchard J.K. (2007) Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol Ecol Notes* 7, 574-8.
- Goudet J. (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Langella O. (1999) *Populations*, 1.2.28. .
- Martin-Burriel I., Rodellar C., Lenstra J.A., Sanz A., Cons C., Osta R., Reta M., De Arguello S. & Zaragoza P. (2007) Genetic diversity and relationships of endangered Spanish cattle breeds. *J Hered* 98, 687-91.
- Page R.D. (1996) TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comput Appl Biosci* 12, 357-8.
- Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945-59.
- Raymond M. & Rousset F. (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity* 86, 248-9.
- Reynolds J., Weir B.S. & Cockerham C.C. (1983) Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105, 767-79.
- Rodríguez Montesinos A. (2002) *Prototipos raciales del vacuno de lidia*. Ministerio de Agricultura., Madrid