

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LA CHURRA TENSINA Y RELACIONES CON OTRAS RAZAS ESPAÑOLAS DEL TRONCO CHURRO

GENETIC DIVERSITY IN CHURRA TENSINA AND RELATIONSHIPS WITH OTHER CHURRA GROUP BREEDS

CALVO, J.H.^{1*}; ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ J.¹; SILES, A.²; LÓPEZ, T.³; AZÓN, R.⁴; SERRANO, M.⁵; MARCOS-CARCAVILLA, A.⁵ y SANZ, A.¹

¹ Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria, Gobierno de Aragón, Zaragoza.

² Diputación Provincial de Sevilla. Cortijo el Cuarto, Sevilla.

³ Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de Raza Churra (ANCHE), Palencia.

⁴ Asociación de Criadores de Ganado Ovino de Raza Churra Tensina (ATURA), Huesca.

⁵ Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Madrid.

*Investigador ARAID, e-mail: jhcalvo@aragon.es

RESUMEN

En este trabajo se presenta la caracterización genética de la Churra Tensina, raza ovina autóctona en peligro de extinción, originaria de la zona de montaña del Pirineo Oscense, así como las relaciones genéticas existentes con otras razas del tronco Churro explotadas en España (Churra, Latxa, Churra Lebrijana). Para ello, se analizaron los 28 microsatélites de DNA recomendados por la FAO para la tipificación de secuencias génicas distintivas de las poblaciones ovinas. La raza Churra Tensina presentó entidad genética propia, con niveles altos de variabilidad ($H=0.659$) y bajos de consanguinidad ($FIS=0.041$). Se identificaron los microsatélites más informativos para la raza Churra Tensina, con objeto de incluirlos en los test de parentesco, autenticación de productos y en el programa de conservación de la raza. Los análisis de diferenciación genética indican que no ha habido intercambio genético con otras razas del tronco churro aquí analizado. El análisis de reconstrucción filogenética agrupó a la Churra, Churra Tensina y Latxa en un cluster con una fiabilidad muy elevada. Es destacable que la raza Churra Lebrijana presentó una variabilidad genética alta ($H=0.744$), a pesar de haber sufrido recientemente un cuello de botella en su población. Finalmente, se han puesto a punto las diferentes metodologías laboratoriales y analíticas, que permitirán instaurar un esquema de conservación en la raza Churra Tensina, maximizando la variabilidad genética y minimizando su consanguinidad.

Palabras clave: ovino, Churro, microsatélite, genética

SUMMARY

The aim of the present study was to estimate the genetic intra-breed variability of Churra Tensina breed and to establish genetic relationships with Churra, Latxa and Merino breeds, as well as Spanish mouflon, by using 28 microsatellite markers. Allele frequencies and heterozygosity revealed high genetic variation in this endangered breed despite their small population size. Estimates of inbreeding coefficient (FIS) was low (0.041) and significant. Observed heterozygosity averaged over loci was high ($H=0.659$). Genetic differentiation tests and assignment of individuals to populations indicated the existence of defined breed populations, and low genetic flow between these breeds. Churra Lebrijana

breed showed an important genetic isolation from the other Churra type breeds, and genetic signatures of demographic bottleneck. The high degree of variability demonstrated in Churra Tensina suggests that these populations are rich reservoirs of genetic diversity. The information reported here would contribute in the establishment of further conservation and selection strategies in this breed.

Key words: sheep, Churro, microsatellite, genetics

Introducción

El origen del tronco ovino Churro descende del *Ovis aries stuedery* de Duerst (Sierra, 2002), poblador de la cuenca mediterránea, habiendo dado lugar en España a varios tipos o agrupaciones étnicas (Castellana, Lebrijana, Tensina, etc.). La raza Churra Tensina debe su denominación al hecho de asentarse ancestralmente en el valle de Tena del Pirineo Central español, donde ha permanecido acantonada durante décadas, siendo base de la vida socioeconómica de muchos municipios del Alto Aragón. En cuanto al sistema de cría, tradicionalmente los rebaños de esta raza eran trashumantes, aprovechando en verano los pastos de montaña y en invierno las estepas y barbechos del Valle del Ebro. Aunque hasta hace pocas décadas se ordeñaba, hoy se cría únicamente por su producción cárnica.

La Churra Tensina fue una raza apreciada por su capacidad de aprovechar pastos difíciles y soportar condiciones climáticas adversas, como el frío o la lluvia, que le permitía alargar las épocas de pastoreo en zonas de alta montaña. Sin embargo, estas ventajas no consiguieron frenar la caída en su número de efectivos (en el año 2000 solo 837 animales estaban inscritos en el Libro Genealógico). Esta situación hace que la raza Churra Tensina esté considerada como raza en peligro de extinción (BOE, 1997) y, según el criterio de la FAO, como una raza "en riesgo-mantenida". Así consta en la base de datos Domestic Animal Diversity Information System (DAD-IS) de la FAO (FAO, 1996).

En este trabajo se presenta la caracterización genética realizada en el CITA, en el marco de

un proyecto cuyo objetivo ha sido caracterizar, preservar y promocionar la raza Churra Tensina. El estudio se realizó, de una parte, para estimar la variabilidad existente en la raza Churra Tensina, y de otra, con objeto de detectar la posible existencia de un flujo genético con otras razas del tronco Churro explotadas en España.

Material y métodos

Se analizaron 309 animales pertenecientes a las razas Churra Tensina (n=65), Churra Lebrijana (n=65), Churra (n=60), Latxa (n=51), Merino (n=29) y Muflón (n=39). Los animales provenían de 2, 1, 2, 2 y 1 rebaño para la Churra Tensina, Churra Lebrijana, Churra, Latxa y Merino, respectivamente. Los animales se eligieron con el menor grado de parentesco en función de las genealogías disponibles. Las 4 primeras razas pertenecen al tronco Churro, estando las Churras Tensina y Lebrijana en peligro de extinción. El Merino y Muflón fueron elegidos como grupos externos, para elaborar la reconstrucción filogenética de las relaciones entre razas. El Merino es un ovino de lana fina, que mantiene el censo más elevado de las razas explotadas en España. Todas las razas pertenecen a la especie *Ovis aries*, a excepción del muflón, ovino salvaje de la especie *Ovis musimon*.

Para llevar a cabo la caracterización genética de la Churra Tensina se utilizaron 28 microsatélites de ADN recomendados por la FAO, analizados en 5 multiplex (ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1250e/annexes/Thematic%20Studies/CGRFA_WG_AnGR_3_04_Inf3.pdf): OARCP34, OARHH47, MAF65, ILSTS005,

ILSTS011, BM1329, OARCP38, MAF209, OARFCB304, INRA63, MAF214, OARAE129, SRCRSP05, MAF70, OARVH72, BM1824, OARFCB128, OARJMP58, OARJMP29, DYMS131, OARFCB193, MCM140, SRCRSP01, ILSTS28, HUU616, OARFCB226, BM8125 y MAF33.

La heterocigosidad, equilibrio de Hardy-Weinberg, contenido de información polimórfica (PIC), frecuencia de alelos nulos por locus para cada raza y la totalidad de la población se analizó con el programa CERVUS 2.0. El programa GENEPOP se utilizó para calcular el equilibrio de Hardy-Weinberg para cada raza. Los estadísticos de diferenciación genética F -de Wright se calcularon mediante el programa GENETIX. Mediante el programa Arlequín se calculó la diferencia entre poblaciones (F_{ST}), y se llevó a cabo el análisis AMOVA. El programa BOTTLENECK fue utilizado para estudiar la posible existencia de cuellos de botella en la historia reciente de las diferentes poblaciones analizadas. Las relaciones entre las diferentes razas se calcularon mediante la distancia de Reynolds, con el paquete informático PHILIP. Por último se utilizó el programa Structure 2.1, para inferir la estructura poblacional y asignar los animales a la población más probable, bajo el modelo de mestizaje y frecuencias alélicas correlacionadas.

Resultados y discusión

Inicialmente se partió de 30 microsatélites, pero se desecharon dos: uno por su dificultad de amplificación en multiplex; y otro por que presentó una estimación de frecuencia de alelos nulos alta (0.31), circunstancia que podría distorsionar los resultados finales del estudio. Los 28 microsatélites definitivos mostraron un alto polimorfismo en la población de Churra Tensina con un número total de alelos por locus que varió entre 4 (*MAF65, BM1824 y OARFCB193*) y 17 (*OARFCB226*). El análisis de diversidad alélica realizado con el programa CERVUS 2.0 mostró que el número de alelos encontrados por locus fue muy similar en las

poblaciones estudiadas. Respecto a la distribución de las frecuencias alélicas para cada locus, se observó que los microsatélites analizados diferían entre sí y entre razas, en cuanto a la presencia de alelos predominantes. En varios loci algunos alelos fueron claramente dominantes (*ILSTS005, ILSTS011, OARAE129*), y en otros destacó la presencia de muchos alelos en frecuencias bajas (*OARFCB304*). La heterocigosidad esperada (H_E) por locus fue mayor que la observada (H_O), siendo los microsatélites *OARHH47* (0.784) y *OARJMP58* (0.820) los que presentaron una mayor heterocigosidad, y el microsatélite *OARAE129* (0.349) el menos informativo a pesar de presentar 8 alelos.

El cálculo del contenido de información polimórfica (PIC) para cada microsatélite mostró los microsatélites *OARFCB304, MAF70 y OARJMP29* como los más polimórficos. Esto permitió elegir los microsatélites más informativos para la raza Churra Tensina, con objeto de incluirlos en los test de parentesco, trazabilidad y en el programa de conservación de la raza. La combinación de los microsatélites *BM1329, OARFCB304, MAF70, OARFCB128, OARJMP58, OARJMP29, MCM140, OARFCB226 y MAF33* permitió obtener una probabilidad de exclusión de paternidad de 0.999. La población de Churra Tensina mostró 7 alelos privados, dos de ellos en frecuencias significativas (>0.10), siendo tales microsatélites muy útiles para asignar animales o autenticar productos asociados a la raza. La frecuencia media de alelos privados entre las 6 razas analizadas fue de 0.047, siendo el número medio de alelos migrantes entre poblaciones de 1.54.

La heterocigosidad (H) representa uno de los mejores estimadores de la diversidad genética, ya que se aplica a cualquier especie independientemente de su estructura reproductiva o genética, permitiendo hacer comparaciones. La población de Churra Tensina analizada presentó una heterocigosidad media elevada (0.659) y un valor de consangui-

nidad bajo ($F_{IS}= 0.041$), mostrando un alto reservorio de diversidad genética. La población presentó desequilibrio de Hardy-Weinberg, debido posiblemente a la estructuración de las poblaciones (Efecto Whalum), o por deriva genética o selección.

Se calcularon los índices F_{ST} de diferenciación genética entre poblaciones, encontrando los mayores valores en Muflón (0.180) y los menores en Latxa (0.069). Todos los test fueron significativos entre razas, y se observó una entidad genética propia de la Churra Tensina. A partir de estos datos se estimó el flujo genético entre poblaciones mediante el número de alelos migrantes, confirmando el pequeño o nulo flujo genético entre la población de Churra Tensina y el resto de razas analizadas. Los resultados de distancias de Reynolds entre poblaciones fueron similares a los obtenidos para los valores F_{ST} , y se utilizaron para representar de forma gráfica las relaciones entre razas (Figura 1), mediante el método de reconstrucción filogenética de matrices de distancia (Neighbour-joining). Las mayores distancias genéticas se observaron entre el Muflón y el resto de razas analizadas. Final-

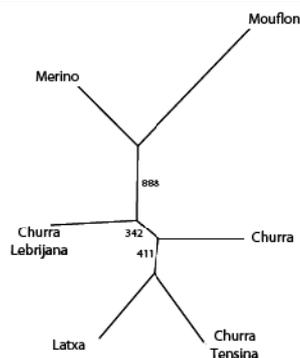
mente, al analizar la posible estructuración de la raza Churra Tensina, todos los animales se agruparon en un solo cluster, confirmando una vez más la identidad genética propia de la raza. Es destacable que la raza Churra Lebrijana presentó una variabilidad genética alta ($H=0.744$), a pesar de haber sufrido recientemente un cuello de botella (test de Wilcoxon, $p= 0.0018$) que ha reducido su censo a los 200 individuos que existen en la actualidad.

Como conclusión, podemos afirmar que la raza Churra Tensina presentó entidad genética propia, con niveles altos de variabilidad y bajos de consanguinidad. Los análisis de diferenciación genética mostraron la ausencia de intercambio genético con otras razas del tronco churro analizadas. El análisis de reconstrucción filogenética agrupó a la Churra, Churra Tensina y Latxa en un cluster con una fiabilidad muy elevada. Las diferentes metodologías laboratoriales y analíticas puestas a punto permitirán instaurar un esquema de conservación de la raza Churra Tensina, maximizando la variabilidad genética y minimizando su consanguinidad.

Agradecimientos

Trabajo financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación de España y los Fondos Europeos para el Desarrollo Regional, a través de los proyectos INIA RZ2004-028, RZP2004-0008 y RTA2003-031. J. Álvarez-Rodríguez y A. Marcos-Carcavilla han disfrutado de sendas becas predoctorales INIA.

Figura 1. Representación de la distancia de Reynolds entre las diferentes razas. Los números representan la fiabilidad del árbol sobre 1000 remuestros, y la escala representa la distancia génica.



Bibliografía

BOE (1997). Real Decreto 1682/1997 de 7 de noviembre, por el que se actualiza el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España.

FAO (1996). Domestic Animal Diversity Information System, <http://www.fao.org/dad-is/>, FAO, Rome, Italy.