

Caracterización genética de la raza bovina Carora mediante el uso de marcadores microsatélites

Genetic characterization of the Carora cattle breed using microsatellites markers

Sundry Vásquez G.¹, Efraín Salazar¹, Luis Dickson² y Luis Castro¹

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. (INIA-CENIAP). Apartado 4653. Maracay, Aragua. Venezuela. Correo electrónico: sundryvg@gmail.com.

²Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. INIA-Lara. Venezuela.

RESUMEN

La raza bovina Carora de Venezuela, se originó mediante cruces empíricos entre las razas Criollo Amarillo de Quebrada Arriba y Pardo Suizo, principalmente. Es la raza bovina criolla que más contribuye a la economía ganadera de Venezuela y forma parte de un escaso número de razas locales que son parte de nuestro invaluable patrimonio genético. El conocimiento exhaustivo de sus características genéticas es primordial si se quiere contribuir con su preservación en el tiempo. El presente estudio tuvo como objetivo principal la realización de una caracterización genética de la raza Carora, el estudio de su variabilidad genética, así como de las relaciones genéticas con sus ancestros conocidos. Dado que el criollo Amarillo de Quebrada Arriba ya se extinguió se utilizaron muestras de la raza Criollo Limonero, pariente más cercano de esta y muestras de ejemplares de la raza Pardo Suizo para evaluar la estructura poblacional y filogenia. Se analizaron 35 muestras de la raza Carora, 20 de la raza Criollo Limonero y 20 de la raza Pardo Suizo, utilizando 10 marcadores microsatélites recomendados por FAO/ISAG, mediante los cuales fue posible estimar variables genético poblacionales, realizar pruebas de equilibrio de Hardy y Weinberg, para detectar la conformación de grupos genéticamente diferenciados. Como resultado se observó que la raza Carora posee una alta variabilidad genética, encontrándose cinco subtipos. Este estudio también evidenció, que la raza Carora a pesar de ser un híbrido producto de dos razas, ha evolucionado y desarrollado una identidad propia.

Palabras clave: Raza Carora, marcadores moleculares, Caracterización genética.

ABSTRACT

Cattle Carora breed originated from empirical crossing of cattle breeds Criollo Amarillo de Quebrada Arriba and Brown Swiss. Carora is the creole cattle breed that makes the greatest contribution to local cattle farming economy and it is part of a scarce number of local breeds that form Venezuela's invaluable genetic patrimony. The exhaustive knowledge of its genetic characteristics is indispensable to contribute to its preservation. Main objective of present study was to undertake a genetic characterization, genetic variability determining and establishing of phylogenetic relationships with its known ancestors. Since Criollo Amarillo of Quebrada Arriba is extinct 20 samples of closest relative Criollo Limonero were used among 35 of Carora and 20 Brown Swiss blood samples. 10 DNA molecular markers recommended by FAO/ISAG microsatellites were used to estimate a number of population genetic variables, test for Hardy and Weinberg, and to detect the formation of genetically distinct groups. Results show that the Carora breed possesses a high genetic variability. Five subtypes were observed. It can be concluded that despite of being a hybrid product of at least two races, Carora cattle has evolved and developed a proper identity.

Key words: Carora breed, molecular markers, genetic characterization.

INTRODUCCIÓN

La ganadería venezolana se realiza de manera tradicional en una variedad de sistemas y condiciones agroecológicas a lo largo y ancho del todo el territorio nacional. La misma se realiza en buena medida con razas de origen *Bos indicus* y algunas razas *Bos Taurus*, que de manera permanente se introducen desde otros países por productores y/o programas gubernamentales de apoyo a la actividad ganadera.

Esta introducción indiscriminada de razas, ha originado el desvanecimiento de las razas locales al punto de que algunas ya se han extinguido totalmente. No obstante todavía existen algunas razas como la Carora que han logrado sobrevivir y que contribuyen de manera importante a la producción ganadera nacional.

La raza Carora se originó del cruce del Criollo Amarillo de Quebrada Arriba (ya extinto) y su cruce empírico con la raza Pardo Suizo y se conocen por lo menos 3 tipos de raciales de la misma (Baya, Parda y Criolla) (ASOCRICA, 2013). Hace ya algunas décadas el ganado Carora comenzó a evidenciar desadaptación al clima, ya que algunas ganaderías se excedieron en el cruce absorbente con la raza Pardo Suizo y su mezcla con otras, como Holstein y Brahman.

La preocupación por la amenaza para la sobrevivencia de esta raza originó que a partir de 1984 se diseñara y pusiera en marcha un programa de apareamientos genéticos dirigidos a las mejoras en pro de la conservación de la raza (ASOCRICA, 2013).

A pesar, de los avances y estudios realizados a favor de la raza Carora, existe todavía muy poca información científica acerca de su constitución genética. La importancia que la caracterización de nuestro ganado puede tener en su utilización y conservación y el hecho de poder contar con la tecnologías y equipamiento necesario a nivel nacional, despertó el interés en realizar el presente estudio, que tuvo como objetivo principal, la caracterización genética, estudio de la variabilidad y determinación de relación filogenética de la raza Carora con otras razas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de sangre periférica de una población de bovinos de los tres grupos poblacionales o familias de la raza Carora (Baya, Parda y Criolla), pertenecientes a la Asociación venezolana de criadores de la raza Carora (ASOCRICA) provenientes de distintas zonas del país, además de muestras de las razas ancestrales Criollo Limonero, pariente más cercano del Criollo Amarillo de Quebrada Arriba y de Pardo Suizo. El muestreo se realizó seleccionando animales de ambos sexos entre jóvenes y adultos de diferentes familias que existen en el país (Cuadro 1).

La sangre periférica, a fin de obtener los glóbulos blancos necesarios para el estudio, se colectó en tubos vacutainers tapa morada con 500mM EDTA como anticoagulante, posteriormente se congeló a -20°C para conservarla hasta su uso.

La metodología utilizada para el aislamiento del ADN genómico, fue Dellaporta *et al.*, 1983, con modificaciones realizadas para este estudio, previamente se homogenizó la muestra durante 10 minutos y luego se colocó 300 μL de sangre dentro de un tubo para microcentrifuga de 1,5 mL. A cada tubo con sangre se agregó tampón de extracción (Tris HCL pH 8,0 100mM, EDTA pH 8,0 50 mM, NaCl 500 mM, SDS (w/v) 1,25%, bisulfito de sodio 0,38 g/100 ml), precalentado a 65°C , e incubado a 65°C por 45 minutos, con agitación de 1000 rpm. Luego se agregó proteinasa K a las muestras y posteriormente fueron incubadas a 55°C por 60 minutos y al 7.500 rpm para provocar la lisis celular y separar los ácidos nucleicos del restos de células.

Se realizó un lavado con Cloroformo Isoamil Alcohol (24:1) y se incubaron las muestras a -20°C por 15 minutos. Después se centrifugaron a 14.000 rpm por 10 minutos. Se precipitó el ADN con Isopropanol frío y Acetato de Sodio 3M. Las muestras se incubaron a -20°C por 1 hora o se dejaron toda la noche. Las muestras fueron centrifugadas a 14.000 rpm por 10 minutos a 4°C . Se lavaron los sedimentos etanol 70% frío y se centrifugaron las muestras a 14.000 rpm por 5 minutos y se procedió a resuspender el sedimento con 50 μL de Tampón TE 1X (Tris-HCl 10 mM y 1 mM EDTA, pH=8). El siguiente paso fue agregar 1 μL de RNasa a 37°C durante

1 hr, la acción de la enzima se paralizó para luego colocar la muestra en hielo por 15 min, siendo almacenadas a -20 °C hasta su análisis.

Para este estudio se utilizaron 10 marcadores microsatélite recomendados por la FAO/ISAG, 2004 (Cuadro 2), realizando la técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), estas reacciones se amplificaron en un ciclador de temperatura Marca MJ Research modelo PT2000. El programa de amplificación se inició con una etapa de desnaturalización de 5 minutos a 94°C, seguido de 35 ciclos constituidos por una etapa de desnaturalización de 30 segundos a 95°C, una etapa de alineación de 30 segundos a 52°C-65°C y una etapa de alargamiento de 20 segundos a 72°C, para finalizar se realizó una etapa de elongación de 72°C por 20 minutos. La PCR se llevó a cabo en una reacción final de 15 μ L, constituida por 30 ng/ μ L de ADN genómico, Tampón 5X, MgCl₂ (25 Mmol), dNTP'S (5mM), Oligo 1 (6 μ M), Oligo 2 (6 μ M), Taq Polimerasa (5U/ μ l).

Los productos de amplificación fueron separados electroforéticamente junto con un marcador de tamaño molecular de secuencias de 25 pb (Promega), en cámaras verticales marca C.B.S. Scientific Company, con geles de poliacrilamida al 6% (19:1acrilamida:bisacrilamida) en condiciones desnaturalizantes (Urea 7M), durante 6 horas a 90 W, 2000 V, 45 mA a 60°C y se visualizaron los resultados con nitrato de

plata, utilizando el kit de tinción con plata de la marca PIERCE.

Análisis de datos

El análisis genético contempló la estimación de las variables poblacionales: Número de alelos (*na*), promedio de alelos (*pa*), además de la heterocigosis observada (*Ho*) y esperada (*He*). Posteriormente se estimó la distancia genética de Nei (Nei, 1987) y el índice de fijación *FST* (Wright, 1951). Los análisis se realizaron mediante los programas informáticos GenePop 4.0.10 (Raymond y Rousset, 1995) y FSTAT 2.9.3.2 (Goudet, 1995). La visualización gráfica de los resultados se llevó a cabo mediante la confección de árboles filogenéticos mediante el método de Neighbor joining (Saitou y Nei, 1987). Para la confección y validación de los árboles se utilizaron 1.000 repeticiones (bootstraps); en su cómputo y visualización se utilizaron los programas Population 1.2.30 (Langella, 2002) y Treeview 1.6.6 (Page, 2001).

Se realizó un análisis de conglomerados, que permite relacionar a los individuos más parecidos genéticamente. Dicho análisis utiliza un algoritmo bayesiano que emplea un modelo basado en el método Monte Carlo - cadena de Markov, que estima la distribución *a posteriori* de cada coeficiente de mezcla de cada individuo (*q*). La media de esta distribución representa una estimación de la proporción que el genoma

Cuadro 1. Distribución de las razas y su ubicación.

RAZA	CANTIDAD	UBICACIÓN
<u>Carora:</u>	35	
Baya	11	ASOCRICA
Parda	11	Carora Edo. Lara
Criolla	13	
<u>Criollo Limonero</u>	20	INIA-Zulia, Estación local Carrasquero, municipio Mara.
<u>Pardo Suizo</u>	20	Hacienda El Milagro (Pardo Suizo), Bejuma Edo. Carabobo
TOTAL:	75	

Cuadro 2. Listado de los 10 *loci* microsatelites seleccionados.

N°	Marcadores	Cro	Secuencia de Primers (5'-3')	Referencias	Tamaño (pb)
1	INRA063 (D18S5)	18	ATTTGCACAAGCTAAATCTAACCC AAACCACAGAAATGCTTGGGAAG	Vaiman <i>et al.</i> (1994)	167-189
2	M M 1 2 (D9S20)	9	CAAGACAGGTGTTTCAATCT ATCGACTCTGGGGATGATGT	Mommens <i>et al.</i> (1994)	101-145
3	H E L 9 (D8S4)	8	CCCATTCAGTCTTCAGAGGT CACATCCATGTTCTCACCAC	Kaukinen y Varvio (1993)	141-173
4	CSRM60 (D10S5)	10	AAGATGTGATCCAAGAGAGAGGCCA AGGACCAGATCGTGAAAGGCATAG	Moore <i>et al.</i> (1994)	79-115
5	CSSM66 (D14S31)	14	ACACAAATCCTTTCTGCCAGCTGA AATTTAATGCACTGAGGAGCTTGG	Barendse <i>et al.</i> (1994)	171-209
6	HAUT24 (D22S26)	22	CTCTCTGCCTTTGTCCCTGT AATACACTTTAGGAGAAAAATA	Harlizius <i>et al.</i> (2012)	104-158
7	ETH3 (D19S2)	19	GAACCTGCCTCTCCTGCATTGG ACTCTGCCTGTGGCCAAGTAGG	Solinas Toldo <i>et al.</i> (1993)	103-133
8	ETH10 (D5S3)	5	G TTCAGGACTGGCCCTGCTAACA CCTCCAGCCCCTTTCTCTTCTC	Solinas Toldo <i>et al.</i> (1993)	207-231
9	BM2113 (D2S26)	2	GCTGCCTTCTACCAAATACCC CTTAGACAACAGGGGTTTGG	Bishop <i>et al.</i> (1994)	122-156
10	BM1818 (D23S21)	23	AGCTGGGAATATAACCAAAGG AGTGCTTTCAAGGTCCATGC	Bishop <i>et al.</i> (1994)	248-278

de un individuo tiene de las poblaciones ancestrales. Para el análisis se ha utilizado un periodo de burn-in de 100.000 repeticiones y 1.250.000 interacciones y el programa Structure 2.3.3 (Pritchard *et al.*, 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de realizar las amplificaciones y visualización de los fragmentos de cada muestra de la población (Figura 1), se evidencia la optimización de la metodología en los fragmentos de ADN con el microsatélite tomando como ejemplo el locus MM12 que conforma el grupo de los 10 loci seleccionados, obteniendo en agarosa estos polimorfismos.

Estos loci fueron seleccionados por su alto polimorfismo, para hacer las respectivas comparaciones entre la raza Carora estudiada y

sus dos ancestros más significativos, obteniendo así la información sobre la variabilidad genética de cada una de estas razas. Por otro lado, la mayoría de estos microsatélites se encuentran entre los más referenciados en publicaciones científicas, como los usados por Villasmil-Ontiveros *et al.*, 2008, para la caracterización a través de la amplificación de 14 loci microsatélites, la raza Criollo Limonero, es importante decir que cinco utilizados para este estudio coinciden con la mencionada caracterización como lo son INRA63, HEL9, ETH3, ETH10, CSSM66.

En un estudio realizado por Piñeira *et al.*, 2011, donde se caracterizó genéticamente un rebaño de bovinos Criollos patagónicos chilenos, se utilizaron 10 marcadores microsatélites y se estimaron una serie de variables genético poblacionales lo que culminó en un aporte importante información de esta raza en cuanto a

su variabilidad genética, de estos microsatélites coincidieron ETH10, ETH03, BM2113.

Esto pone de manifiesto la confiabilidad de la información obtenida por el uso de estos microsatélite en estudios de diversidad genética en razas autóctonas y criollas en este estudio para la caracterización de la raza Carora.

Al visualizar la Figura 1, se demuestra la capacidad del cebador microsatélite MM12 para establecer polimorfismos en las tres razas estudiadas. De igual modo, la metodología estandarizada fue positiva para la identificación de polimorfismos en las tres razas estudiadas. Los resultados arrojados indican una mejor resolución de las bandas en las muestras de la raza Criollo Limonero, y una menor resolución en las bandas de las muestras de la raza Pardo Suiza. Los patrones de bandas visualizados en la raza Carora, son similares a los obtenidos en la raza Pardo Suizo. Las muestras de ADN de la raza Criollo Limonero, si bien comparte algunas de las bandas observadas en las otras dos razas analizadas, presenta generalmente un mayor número de bandas por muestra. Se

observaron, para la raza Criollo Limonero, entre 1 y 4 bandas.

Todos los Microsatélites utilizados (Cuadro 3), en este ensayo amplificaron y mostraron alto polimorfismo, detectándose 61 alelos en los 10 loci de los 35 Bovinos Carora estudiados, lo que corresponde a un promedio de 6,1 alelos/locus. El número de alelos por locus varió desde un máximo de 10 alelos en los loci HEL09 y hasta 3 alelos que correspondió al locus BM2118 y ETH10. Cabe destacar, que en 50% (5 de 10) de los marcadores presentaron 7 o más alelos diferentes, lo que se refleja que el promedio de alelos sea tan alto en la poblaciones. Por tal motivo, esta evaluación permite evidenciar un alto polimorfismo en marcadores seleccionados, haciéndolos adecuados para el estudio de la caracterización genética.

Por la dependencia de la cantidad de alelos del número de individuos muestreados, se recomienda utilizar la Heterocigosidad esperada (He) y Heterocigosidad observada (Ho), como indicadores para medir la variabilidad, tal como su nombre lo indica la Ho, representa el número

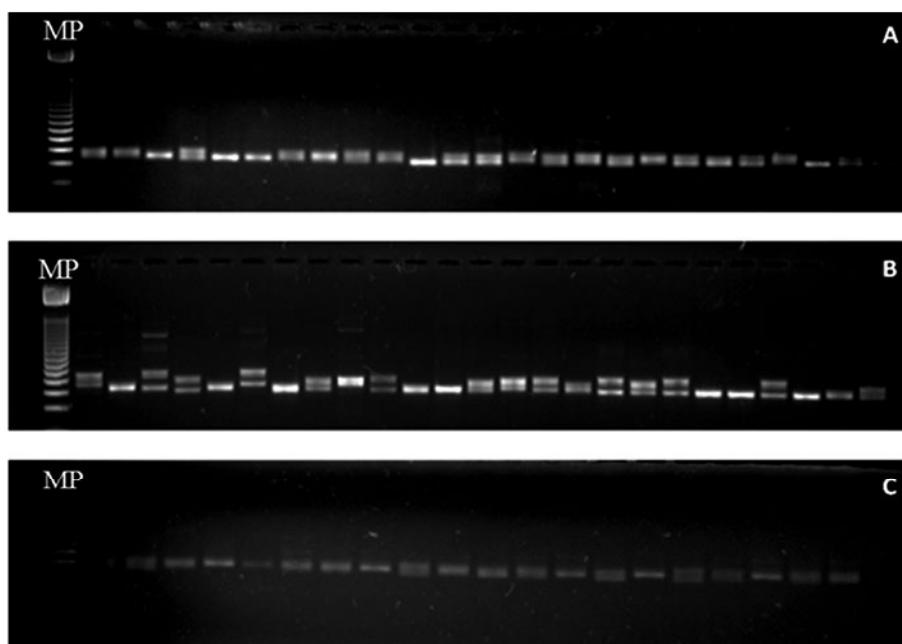


Figura 1. Amplificación de los fragmentos ADN del genoma en las poblaciones (A) Raza Carora, (B) Raza Criollo Limonero, (C) Pardo Suizo, con el locus microsatélite MM12, en geles de agarosa al 2,7% usando un (MP) Marcador de Peso molecular de 1 Kb.

relativo de individuos heterocigotos para cada locus que se encuentra en la población estudiada, y la H_e es la frecuencia relativa que se debería observar luego de apareamientos panmícticos, este valor de Heterocigosidad oscila entre 0 y 1 (Villasmil-Ontiveros, 2008). Mientras más cercano este de 1 mayor Heterocigosidad de la población.

En la investigación realizada, el promedio de la Heterocigosidad observada (H_o) en la raza Carora (Cuadro 3) fue de 0,649, comparándolo con otras investigaciones, este valor fue ligeramente más alto que el reportado por Villasmil-Ontiveros *et al.*, 2008, con la caracterización del ganado Criollo Limonero con un promedio de 0,602 y muy similar a lo reportado por Piñeira *et al.*, 2011 con la caracterización de los bovinos criollos patagónicos chilenos donde el promedio fue de 0,65 y como lo obtenido Barrera *et al.*, 2006 del estado genético de la raza Criolla Colombiana Casanare de 0,63. Esta comparación de datos nos indica que los análisis realizados para este estudio, están en concordancia con investigaciones acerca

de caracterización y/o conservación de razas autóctonas y criollas en otros países realizadas recientemente. En otras investigaciones donde el promedio de heterocigosis observada fue más bajo como el reportado por Mukesh *et al.*, 2004 en su estudio de la diversidad genética para razas autóctonas de la India con un 0,59 y los valores de Heterocigosidad observada obtenida de 0,61 por Lirón *et al.*, 2002 caracterización genética del ganado bovino Argentino y Boliviano.

El promedio de la Heterocigosidad esperada (H_e) en las raza Carora fue de 0,659, observándose que este valor fue similar al reportado por Villasmil-Ontiveros *et al.*, 2008 con un promedio 0,689 y por Lirón *et al.*, 2002 con un promedio de 0,62, por otro lado el promedio reportado por Piñeira *et al.*, 2011 fue más alto con un 0,79. Con respecto a la prueba de equilibrio de Hardy y Weinberg, se detectó una ligera inconsistencia en la Raza Carora (Cuadro 3), donde mostraron que la población manifestó un leve déficit de heterocigotos (F_{is} entre -0.009 y -0.131 respectivamente), detectándose así un desequilibrio significativamente bajo en la

Cuadro 3. Biodiversidad genética de la raza Carora.

Locus	N. Alélos	H	H_o	H_e	F_{is}
INRA063	4	0,702	0,742	0,692	-0,058
HEL09	10	0,690	0,657	0,680	0,049
ETH03	7	0,734	0,800	0,724	-0,090
BM1818	3	0,341	0,314	0,336	0,081
MM12	5	0,695	0,714	0,685	-0,027
ETH10	3	0,632	0,714	0,623	-0,131
HAUT24	9	0,655	0,571	0,646	-0,100
CSSM66	8	0,702	0,771	0,692	0,130
CSRM60	8	0,702	0,742	0,692	-0,059
BM2113	4	0,736	0,742	0,726	-0,009
Promedio	6,1	0,677	0,649	0,659	

H_o : Heterocigosidad media observada. **H_e :** Heterocigosidad media esperada.

H: Heterocigosidad sin sesgo (Nei 1978). **F_{is} :** Coeficiente de endocria.

población pudiéndose deber al número reducido individuos analizados para este estudio.

Luego de realizar los análisis para este estudio, se ha observado una consistencia en los resultados obtenidos demostrando la importante variabilidad genética que posee la raza Carora en relación a estudios realizados con microsatélites en razas criollas y/o autóctonas en donde han determinado la gran variabilidad del recurso genético que poseen.

En el estudio de la divergencia genética de la raza Carora en relación con las poblaciones de Criollo Limonero y Pardo Suizo (Cuadro 4), se determinó la Heterocigosidad observada (Ho), Heterocigosidad esperada (He) y el promedio de alélos (A) como indicadores de la variabilidad genética para cada una de las razas analizadas. Este análisis pudo evidenciar con el uso de los 10 *loci* microsatélites de manera clara, la variabilidad genética existente en las tres razas estudiadas.

La población de la raza Carora, reflejó una Ho de $0,67 \pm 0,14$, He de $0,65 \pm 0,11$ y un índice de $A = 4,6$, reflejando que la raza Carora posee los valores de Heterocigosidad mas altos con relación a las dos razas ancestrales. Comparando la población Carora con la población del Criollo Limonero, que obtuvo un promedio muy similar con una Ho de $0,65 \pm 0,18$ y He de $0,63 \pm 0,17$ pero un índice de $A = 5,6$ más alto, pudiéndose ver que ambas razas tiene una estrecha relación y cercanía entre ambas razas. En el caso de la población a población Pardo Suizo con una Ho de $0,55 \pm 0,10$, He de $0,56 \pm 0,10$ y un índice de $A = 2,8$ presentado los promedios en cuanto

a variabilidad más bajos, y en relación con la población Carora, pudiéndose decir que si existe una relación entre ambas razas, pero la raza Pardo Suizo más alejada que la raza Criollo Limonero.

El comportamiento de estas tres razas, se pueden ver evidenciadas en el árbol filogenético confeccionados a partir de las distancias genéticas interpoblacionales de Nei (Figura 2), en el que se manifiesta la formación de tres grupos muy bien definidos comportándose cada una de la razas de manera independiente de las otras. Este resultado es congruente con el análisis del Cuadro 4, donde se puede ver que la raza Carora a pesar de que es un híbrido de estas dos razas forma un grupo único, separada de sus dos ancestros, pero en donde se observa la relación producto de su conformación que se manifiesta como estrecha con la raza Criollo Limonero y la relación evidente pero no tan cercana con la Raza Pardo Suizo.

Empero se puede ver en el árbol filogenético a tres individuos pertenecientes a la raza Carora pero que guardan una estrecha relación con la población Pardo Suizo, pudiendo existir grupos de la raza Carora muy emparentados con el Pardo Suizo y gracias a lo anterior existe la conformación fenotípica de cada uno de sus grupos poblacionales.

Por otro lado, analizando el árbol filogenético, observamos que el grupo de individuos de la raza Carora se evidencia la formación de cinco subgrupos y no los tres subgrupos raciales Bayos, Criollos y Pardos, fenotipos característicos que conforman la raza.

Cuadro 4. Variabilidad en las tres razas analizadas por medio de la tipificación de 10 *loci* Microsatélites.

Raza	Ho	He	H	A
Carora	$0,67 \pm 0,14$	$0,65 \pm 0,11$	$0,65 \pm 0,11$	4,6
Pardo Suizo	$0,55 \pm 0,10$	$0,56 \pm 0,10$	$0,57 \pm 0,11$	2,8
Criollo Limonero	$0,65 \pm 0,18$	$0,63 \pm 0,17$	$0,65 \pm 0,18$	5,6

Ho: Heterocigosidad media observada. **He:** Heterocigosidad media esperada. **H:** Heterocigosidad (Nei 1978). **A:** Número promedio de alélos

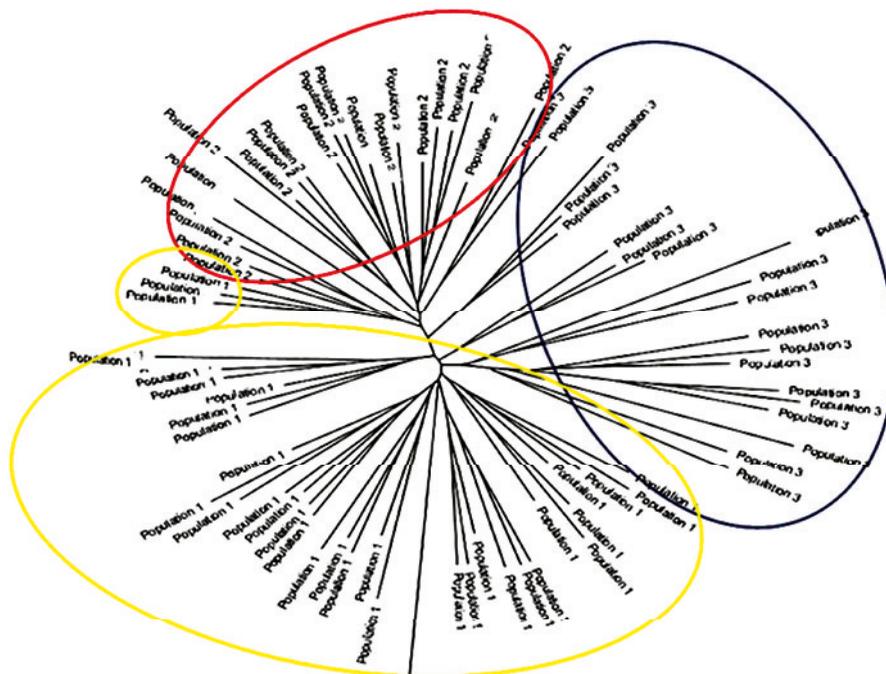


Figura 2. Árbol filogenético confeccionados a partir de las distancias genéticas interpopacionales de Nei, (1987) para la **Población 1**: Raza Carora, **Población 2**: Pardo Suizo y **Población 3**: Criollo Limonero.

Estos cinco fenotipos demuestran la posibilidad de que existan otros grupos poblacionales en la raza, en donde un subgrupo comparte relación estrecha con los individuos de la raza Criollo Limonero y existe un subgrupo muy relacionado con la raza Pardo Suizo, esto se evidencia en las características fenotípicas y la coloración del pelaje, en donde la raza posee un subgrupo poblacional con pelaje de color beige-marrón similar al Criollo Limonero y el otro subgrupo con coloraciones en gris semejante al Pardo Suizo.

Los dos subgrupos adicionales que se observan en el árbol filogenético integrados en la población de la raza Carora, manifiestan la presencia de otros fenotipos en la raza, como la existencia de individuos Carora con color de pelaje blanco. Estos manifiestos pueden tener relación con el proceso de la conformación de la raza durante tantos años y la intervención puntual de las razas con la Holstein y Brahman proporcionando una parte de sus características.

Realizando, posteriormente, un estudio con estos cinco grupos poblacionales de la raza Carora se

pudo evaluar el comportamiento de cada una y si estas conformaciones se mantienen como lo observado en el árbol filogenético (Figura 2) o si los resultados fueran diferentes. En la Figura 3, se ve reflejada un árbol de conglomerados de Nei a partir de las distancia genéticas entre las poblaciones, donde este resultado también es congruente con los resultados del análisis filogenético (Figura 2).

En este análisis, se pone de manifiesto el comportamiento independiente de las tres razas tal como se ve reflejado en la Figura 3, allí se confirma la relación cercana que existe entre la raza Carora y la raza Criollo Limonero y en donde también es notorio el comportamiento de un Carora que a pesar de ser una raza sintética o un híbrido producto de estas dos razas que le dieron origen, el mismo ha evolucionado y ha desarrollado un comportamiento autónomo y una identidad propia. Los resultados del presente estudio indican, que a pesar que la población y muestra de individuos Carora para este estudio no fue mayor (75 bovinos), estos presentaron un nivel de variabilidad genética comparable

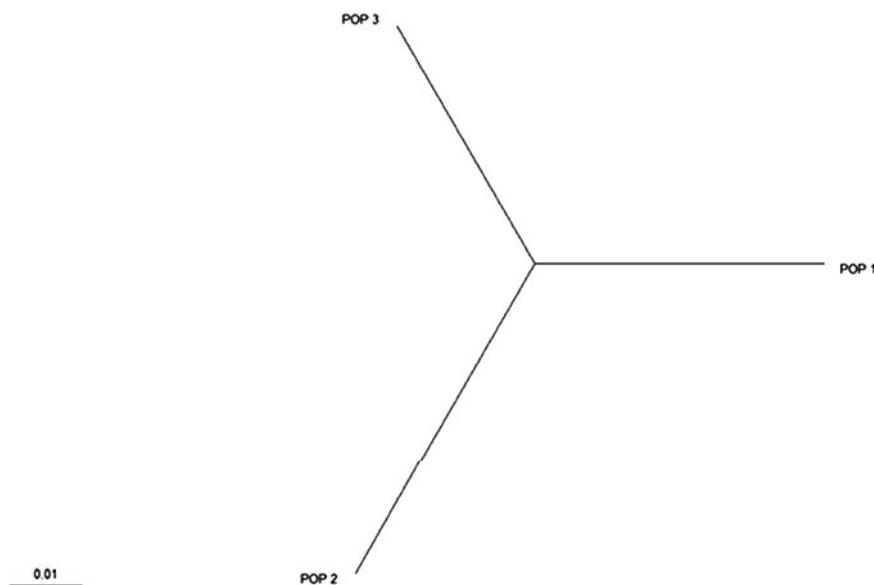


Figura 3. Árbol de Conglomerado confeccionados a partir de las distancias genéticas entre poblacionales de Nei, para la **Población 1**: Raza Carora, **Población 2**: Pardo Suizo y **Población 3**: Criollo Limonero.

a los observados en otras raza en Venezuela, como niveles de variabilidad analizados para el estudio raza Criollo Limonero (Villasmil-Ontiveros, 2008).

Dicha condición y comportamiento de la raza Carora, podría deberse a la acción del denominado efecto fundador y la deriva genética. El efecto fundador, como su nombre lo indica, es un fenómeno que se origina cuando una población es constituida por un número de individuos (censo efectivo N_e) muy reducido respecto de la población original (Falconer y Mackay, 1996). Como consecuencia, en la nueva población será posible encontrar una mayor frecuencia de alelos raros o carecer de otros comúnmente encontrados en la población de origen en este caso el ganado Criollo, como corolario de la selección de un grupo de animales sometido a cruces y selección que fueron evolucionando con la participación de raza Pardo Suizo.

CONCLUSIONES

Los microsatélites para el estudio mostraron que existe un alto polimorfismo lo que permite concluir que existe una alta variabilidad genética

en la raza, con altos niveles de Heterocigosidad en la población.

En lo que respecta a la divergencia genética de la raza Carora con relación a las poblaciones de Criollo Limonero y Pardo Suizo, se determinó que existe una estrecha relación con estas, demostrando así su participación en la creación del Carora.

También puede determinarse que la raza Carora se comporta de manera autónoma como una raza única e independiente y que posee una identidad propia.

También se observó en el grupo de individuos de la raza Carora, la formación de cinco subgrupos y no tres tal y como se creía hasta ahora, en donde un subgrupo comparte relación estrecha con los individuos de la raza Criollo Limonero y otro está muy relacionado con la raza Pardo Suizo.

LITERATURA CITADA

ASOCRICA. Asociación de Criadores de Ganado Carora. Disponible en línea: <http://www.razacarora.com>. [Mar. 20, 2013].

- Barrera, G., H. Sastre, R. Martínez y Y. Ortegón. 2006. Estado genético de la raza criolla colombiana Casanare. **En:** VII Simposio Iberoamericano sobre conservación y utilización de recursos zoogenéticos. Cochabamba, 12/5-7. Bolivia. pp. 41-43.
- Dellaporta, S. L., J. Wood and J. B. Hicks. 1983. A Plant Dna Minipreparation: Version li. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1(4):19-21.
- Falconer, D. Y. and T. Mackay. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th ed. Longman Scientific and Technical, New York, NY. pp. 49-83
- FAO/ISAG. 2004. Secondary Guidelines: Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD): New Recommended Microsatellite Markers. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura, sociedad internacional de genética animal. Disponible en línea: <http://www.dad.fao.org>. [Abr.18, 2010].
- Goudet, J. 1995. FSTAT (Ver. 2.9.3.2): a computer program to calculate F-statistics. *J. Heredity*, 86: 485-486.
- Herrera, D. 1960. *El Ganado Mestizo De Pardo Suizo Tipo Carora*. Tesis de M.Sc. Universidad Central de Venezuela. Venezuela. 100 p.
- Langella, O. 2002. Population 1.2.28. Logiciel de génétique des populations. Laboratoire Populations, génétique et évolution, CNRS UPR 9034, Gif-sur-Yvette.
- Lirón, J., M. Ripoli, J. 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.
- Mukesh, M., M. Sodhi, S. Bhatia and B. Mishra. 2004. Genetic diversity of Indian Cattle breeds as analysed with 20 microsatellite *loci*. *J. Anim. Breed. Genet.* 121:416-424.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, Nueva York.
- PAGE. RDM. 2001. TreeView (Win32) version 1.6.6. Available on line: <http://www.taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/rod.html>. [Feb. 25, 2013].
- Piñeira, J., F. Mujica, R. Felmer, M. Ortiz, G. Pizarro y M. Aracena. 2011. Caracterización Genética De Un Rebaño De Bovino Criollo Patagónico Chileno. *Revista Agro Sur Vol.* 39(1) 46-56.
- Pritchard, J. K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
- Raymond, M. and F. Rousset. 1995. GENEPOP, Version 3.3: population for exact test ecumenism. *J Heredity* 86: 248-249
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- Villasmil-Ontiveros Y., R. Bravo, L. Yáñez-Cuéllar, G. Contreras, J. Jordana y J. Aranguren-Méndez. 2008. Diversidad Genética De La Raza Criollo Limonero Utilizando Marcadores De ADN Microsatélites. *Revista Científica Luz Vol.18, No.4*, pp. 415-423.
- Wright, S. 1951. The genetic structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15: 323-354.