



Facultade de Veterinaria

Traballo de  
Fin de Grao

Estrutura xenética e ferramenta  
de identificación racial na Rubia  
Galega

Nicolás Mejuto Vázquez

**Grao en Veterinaria**

Ano 2022

## LICENZA

Agás onde se faga constar explicitamente, esta obra pertence a Nicolás Mejuto Vázquez e está baixo unha licenza de “Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional”.



## RESUMO

A Rubia Galega é unha das razas máis valoradas na industria cárnica española, aínda que en Galicia acadou unha maior importancia pola súa adaptación ao sistema de produción e territorio galego, aportando riqueza social, económica e ecolóxica.

Dende as primeiras caracterizacións da raza a finais do século XIX e inicios do XX, a Rubia Galega experimentou, por vía dos concursos pecuarios, a implementación da inseminación artificial, plans de mellora e recuperación racial; grandes cambios que a sitúan no presente século preto dos modelos de razas cárnicas europeas, aínda que sen alcanzar a súa expansión e potencial máximo.

Porén, a selección xenómica érguese coma unha opción economicamente viable e eficaz grazas a tecnoloxías coma os marcadores SNPs, entrando a Rubia Galega nesta nova fase de mellora xenética.

Estes recursos xenéticos permiten, ademais, mellorar os controis de trazabilidade, protexendo e reforzando os selos de calidade (como as Indicacións Xeográficas Protexidas) e aos consumidores mediante o reforzo dos métodos tradicionais de auditoría.

Deste modo, o presente traballo fin de grao ten como obxectivos definir a estrutura xenética da Rubia Galega en Galicia e definir un panel de número reducido de SNPs que permita diferenciar esta raza da Asturiana dos Vales, Pirenaica e Limousin, así coma os seus cruces.

Para o estudo de estrutura empregáronse os softwares ADMIXTURE e Genepop a partir de 3.482 individuos da raza e 43.048 marcadores SNPs. Os resultados amosaron ausencia de estrutura xenética no territorio galego, que pode ser explicada polo grande emprego da inseminación artificial nesta raza e a estratexia de promoción seguida pola asociación de criadores (ACRUGA).

O panel de SNPs para a identificación racial parte da selección previa de 200 SNPs segundo a FST total, cuxa eficacia foi verificada mediante simulacións realizadas co software HYBRIDLAB. O estudo amosou un panel de 70 SNPs con bos resultados (asignación racial correcta en máis dun 80% dos individuos) para a diferenciación da Rubia Galega de Asturiana dos Vales, Pirenaica e Limousin, así coma a F<sub>1</sub> destas razas con Rubia Galega. Porén, sería de interese a ampliación do estudo a outras razas coma Charolesa e Blonde d'Aquitaine, así coma aplicar a ferramenta nun escenario real con produtos acollidos á Indicación Xeográfica Protexida "Ternera gallega" categoría "suprema".

**Palabras chave:** ADMIXTURE, Asturiana dos Vales, HYBRIDLAB, Limousin, Pirenaica, razas autóctonas SNP, trazabilidade, xenómica.

## RESUMEN

La Rubia Galega es una de las razas más valoradas en la industria cárnica española, aunque en Galicia alcanza una mayor importancia por su adaptación al sistema de producción y territorio gallego, aportando riqueza social, económica y ecológica.

Desde las primeras caracterizaciones de la raza a finales del siglo XIX e inicios del XX, la Rubia Galega experimentó, mediante los concursos pecuarios, la implementación de la inseminación artificial, planes de mejora y recuperación racial; grandes cambios que la sitúan en el presente siglo cercana a los modelos de raza de carne europea, aunque sin alcanzar su expansión y potencial máximo.

Sin embargo, la selección genómica aparece como una opción económicamente viable y eficaz gracias a tecnologías como los marcadores SNPs, entrando la Rubia Galega en esta nueva fase de mejora genética.

Estos recursos genéticos permiten, además, la mejora de los controles de trazabilidad, protegiendo y reforzando los sellos de calidad (como Indicaciones Geográficas Protegidas) y a los consumidores mediante el refuerzo de los métodos tradicionales de auditoría.

De este modo, el presente trabajo fin de grado tiene como objetivos definir la estructura genética de la Rubia Galega en Galicia y definir un panel de número reducido de SNPs que permita diferenciar esta raza de la Asturiana de los Valles, Pirenaica y Limousin, así como sus cruces.

Para el estudio de estructura fueron empleados los softwares ADMIXTURE y Genepop a partir de 3.482 individuos de la raza y 43.048 marcadores SNPs. Los resultados mostraron ausencia de estructura genética en el territorio gallego, que puede ser explicada por el gran empleo de la inseminación artificial en esta raza y la estrategia de promoción seguida por la asociación de criadores (ACRUGA).

El panel de SNPs para la identificación racial parte de la selección previa de 200 SNPs según la FST total, cuya eficacia fue verificada mediante simulaciones realizadas con el software HYBRIDLAB. El estudio muestra un panel de 70 SNPs con buenos resultados (asignación racial correcta en más de un 80% de los individuos) para la diferenciación de la Rubia Galega de Asturiana de los Valles, Pirenaica y Limousin, así como la F<sub>1</sub> de estas razas con Rubia Galega. Sin embargo, sería interesante la ampliación del estudio a otras razas como Charolesa y Blonde d'Aquitaine, así como aplicar la herramienta en un escenario real con productos acogidos a la Indicación Geográfica Protegida "Ternera gallega" categoría "suprema".

**Palabras clave:** ADMIXTURE, Asturiana de los Valles, genómica, HYBRIDLAB, Limousin, Pirenaica, razas autóctonas, SNP, trazabilidad.

## ABSTRACT

The Rubia Galega is one of the most valued breeds in the Spanish meat industry, although, in Galicia, it reaches greater importance due to its adaptation to the Galician production system and territory providing social, economic and ecological wealth.

From the first characterizations of the breed at the end of the 19th century and the beginning of the 20th, the Rubia Galega experienced, through livestock competitions, the implementation of the artificial insemination, plans for improvement and breed recovery; great changes that place it in the present century close to the European beef breed's models, although without reaching its expansion and maximum potential.

However, genomic selection appears as a profitable and effective option thanks to technologies such as SNPs markers, entering the Rubia Galega in this new phase of genetic improvement.

These genetic resources also allow the improvement of traceability controls, protecting and reinforcing quality seals (like Protected Geographical Indications) and consumers by reinforcing traditional auditing methods.

In this way, the present end-of-degree project aims to define the structure genetics of the Rubia Galega in Galicia and define a panel with a reduced number of SNPs that allows to differentiate this breed from the Asturiana de los Valles, Pirenaica, Limousin, as well as its crosses.

For the structure study, the ADMIXTURE and Genepop software were used from 3,482 individuals of the breed and 43,048 SNPs markers. The results show the absence of genetic structure in the Galician territory, which can be explained by the great use of the artificial insemination in this breed and the promotion strategy followed by the breeders' association (ACRGUGA).

The panel of SNPs for breed identification is based on the previous selection of 200 SNPs according to the total  $F_{ST}$ , whose effectiveness was verified through simulations carried out with the HYBRIDLAB software. The study shows a panel of 70 SNPs with good results (correct breed assignment in more than 80% of the samples) for the differentiation of the Rubia Galega from Asturiana de los Valles, Pirenaica and Limousin, as well as the  $F_1$  of these breeds with Rubia Galega. However, it would be interesting to extend the study to other breeds such as Charolesa and Blonde d'Aquitaine, as well as to apply the tool in a real scenario with products covered by the Protected Geographical Indication "Ternera gallega" in the "suprema" category.

**Keywords:** ADMIXTURE, Asturiana de los Valles, autochthonous breeds, genomics, HYBRIDLAB, Limousin, Pirenaica, SNP, traceability.

## ÍNDICE

<b>LICENZA</b> .....	2
<b>RESUMO</b> .....	3
<b>RESUMEN</b> .....	4
<b>ABSTRACT</b> .....	6
<b>ABREVIATURAS</b> .....	9
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	10
Contexto histórico e caracterización racial .....	10
Estado actual .....	12
A mellora no gando vacún e aplicación á Rubia Galega.....	13
Trazabilidade .....	14
<b>OBXECTIVOS</b> .....	16
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	17
Análise de estrutura .....	20
Análise de FST.....	20
Panel de SNPs de diferenciación racial .....	21
<b>RESULTADOS</b> .....	23
<b>DISCUSIÓN</b> .....	26
<b>CONCLUSIÓN</b> .....	32
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	33

## ABREVIATURAS

Por orde alfabética:

- A: Adenina.
- ACRUGA: Asociación de Criadores de Rubia Galega.
- ADN: Ácido desoxirribonucleico.
- AFLP: Amplified fragment length polymorphism.
- AV: Asturiana dos Vales.
- BOAGA: Federación de Razas Autóctonas de Galicia.
- C: Citosina.
- CE: Comisión Europea.
- DAPC: Análise discriminante de compoñentes principais.
- DOP: Denominación de Orixe Protexida.
- ETG: Especialidade Tradicional Garantida.
- F<sub>1</sub>: Filial 1.
- FEADER: Fondo Europeo Agrícola de Desenvolvemento Rural.
- FST: Índice de fixación.
- G: Guanina.
- IA: Inseminación Artificial.
- IXP: Indicación Xeográfica Protexida.
- Li: Limousin.
- MAF: Minor Allele Frequency.
- MAGRAMA: Ministerio de Agricultura, Alimentación e Medio Ambiente.
- MAPA: Ministerio de Agricultura, Pesca e Alimentación.
- MN: Monta Natural.
- Pi: Pirenaica.
- RG: Rubia Galega.
- SA: Sociedade Anónima.
- SCSIE: Servizo Central de Soporte á Investigación Experimental.
- SNP: Polimorfismo dun Só Nucleótido.
- STR: Short Tandem Repeats.
- T: Timina.
- UNIZAR: Universidade de Zaragoza.
- USC: Universidade de Santiago de Compostela.
- WIDDE: Web-Interfaced next generation Database dedicated to genetic Diversity Exploration.

## INTRODUCCIÓN

A Rubia Galega (RG) é unha das razas máis valoradas na industria cárnica española debido á alta calidade da súa canal, porén, en Galicia acada maior importancia pola súa adaptación ao medio, territorio e sistema de produción galegos. Polo tanto, esta raza representa unha riqueza social, ecolóxica e comercial que se debe coidar e protexer mediante a súa posta en valor e a súa mellora.

### Contexto histórico e caracterización racial

---

As primeiras caracterizacións que se levaron a cabo da raza bovina galega, tanto a mencionada na memoria de Gandería de España no ano 1891 (Junta Consultiva Agronómica, 1892) como as realizadas por Rof-Codina (1907), baséanse nas variedades de capas e nas orixes xeográficas dos animais. Nestes documentos, descríbense así dous grupos principais: o rabaño de montaña, integrado por animais pequenos, con menor altura á cruz, corpo curto, articulacións fortes e carácter áxil; e a cabana dos vales, cun corpo máis alongado, maior altura e anchura de peito, xarretes anchos e marcha lenta (Junta Consultiva Agronómica. Dirección General de agricultura industria y comercio, 1892). En canto ás capas, Rof-Codina (1916), describe tres: colorada, trigueira e rubia; así como as súas variedades teixa, varela e marela.

A partir do ano 1906, da man do primeiro “Concurso Agrícola y Ganadero” celebrado en Lugo, os concursos pecuarios acadan unha grande importancia no agro galego provocando, consecuentemente, o agromo do interese pola toma de mostras biométricas obxectivas que serven para comezar a caracterización racial exhaustiva destes animais (Conde-Gómez, 2013), iniciándose así unha etapa ininterrompida de selección ao longo do século (Becerra & Sánchez, 2000). Podemos tomar este momento, entorno a 1905, como o inicio do primeiro período de mellora da raza, onde atopábase reses de talla pequena, altura media á cruz de 106 cm, coa liña dorsal afundida, tronco curto e peito estreito e alto. Esta primeira fase alongarase até o 1933, e aínda que se define como de mellora cárnica, as esixencias dun agro galego conformado por pequenas explotacións familiares obrigan a manter a funcionalidade tripla da raza (carne, leite e traballo) (Carballal-Palmeiro, 1947) a pesar de que o mercado fai presión unicamente cara rendementos carniceiros (Conde-Gómez, 2013). Deste modo, tras máis de 20 anos, atopamos animais con maior altura á cruz, horizontalización da liña dorsal e aumento dos cuartos traseiros, traducíndose todo isto en maiores pesos acadados, descenso dos índices de conversión e obtención de mellores pezas (Becerra & Sánchez, 2000).

Porén, a raza galega sofre, durante estes primeiros anos do século XX, unha “desordeada mestizaxe” (Carballal-Palmeiro, 1932; Escribano-Tejedor, 1951; Salinas-Fiel, 1951) procedente da importación de sementais de Durhan (Shorthorn), Schwytz (Parda Alpina), Simmenthal

(Fleckvieh), Holandesa (Frisoa), etc. (Cantalapiedra, 1999), que dá lugar á perda de exemplares puros e da cabana autóctona. Carballal-Palmeiro estima, no ano 1947, que un 45% e un 32% (preto de 800.000 individuos) da poboación bovina galega son mestizos galego-Simmenthal e galego-Schwytz, respectivamente. Deixando así en pouco máis do 17% ao que denomina “tipo galego mellorado e orixinario”. As importacións e influencias destas liñas bovinas parecen estar explicadas polo auxe da industria láctea nesta época (Conde-Gómez, 2013), aínda que o cambio cara a produción leiteira non parece ser tan significativo como noutras rexións do norte da Península Ibérica (Álvarez-González, 1951; Cuezva-Samaniego, 1951; Salvado-Cabello, 1951).

Comeza deste modo un interese xeneralizado entre os técnicos do agro galego por manter a pureza da raza. Buscan así garantir o seu avance e aumentar o aproveitamento do seu potencial xenético, xa que, como indica Rey-Alonso no ano 1947, a mestizaxe dos sementais pon a cabana “índixena” en risco, incluso, de desaparecer. A defensa da raza susténtase na idea de que é esta a única que pode suplir as esixencias da estrutura agraria familiar galega onde o traballo e a carne son aptitudes indispensables e o minifundio é a única realidade; polo que razas con mal desenvolvemento muscular e/ou aptitude de engorde, como a Holandesa e a Schwytz, ou con grandes esixencias forraxeiras, como a Simmenthal, non se adaptan á realidade produtiva galega. Así, determínanse unha serie de fases progresivas a seguir coa fin de recuperar pureza: ordenación do servizo de sementais, recuperación racial, fixación de caracteres étnicos e estudo de rendementos económicos (Carballal-Palmeiro, 1947; Rey-Alonso, 1947).

No ano 1944, a raza bovina galega sofre un avance cualitativo e cuantitativo, xa que se incorpora de xeito progresivo a inseminación artificial (IA) e o Plan de Mellora de Raza Bovina en todo o territorio galego. Cabe destacar tamén a función da Estación Pecuaria de Lugo e do centro de Fontefiz (Ourense) neste eido. Deste modo, das 74 IA realizadas en 1943 na Estación Pecuaria de Lugo pasouse a 20.182 no 1962 (Conde-Gómez, Cifuentes, & Fernández-Prieto, 2010). Acontece, polo tanto, a promoción e progreso da cabana galega, definindo, no ano 1947, Carballal-Palmeiro o biotipo “galego mellorado” onde, con respecto á descrición de Rof-Codina (1916), recolle unha maior altura á cruz e dorso non enyelado, horizontal; tronco de grande capacidade torácica e co costelar convexo. Destaca tamén a nádega con bo desenvolvemento muscular, fronte á verticalidade descrita por Rof-Codina, e a presenza de mamas globulosas, anteriormente “pequenas e mal conformadas” (Rof-Codina, 1916). Os apromos son descritos como fortes e ben conformados fronte aos membros finos e mal apromados do biotipo “galego ordinario”; das capas exclúese a colorada e das variedades só describe a bermella e teixa, tendendo o resto a desaparecer.

Polo tanto, esta segunda metade do século implicou, como en case todas as razas, aínda que especialmente nas leiteiras, un grande desenvolvemento da Rubia Galega grazas ao estudo da

proxenie, único método nesta época para a valoración do xenotipo (Robertson & Rendel, 1950), e a gran expansión da IA (García-Ruiz et al., 2016).

Dende finais do século XX e inicios do XXI, a selección da raza seguiu os modelos do vacún de carne europeo (Cantalapiedra, 1999), aumentando a anchura do peito e capacidade torácica (Becerra & Sánchez, 2000), e reducindo, especialmente nos últimos anos, a alzada e lonxitude corporal (Cantalapiedra, Rodríguez, Payán, Camiña, & Iglesias, 2016), conformando así un animais máis equilibrados e de maior peso e formato (Cantalapiedra, Sánchez, & Monserrat, 1999). O Programa de Mellora da raza aprobado en 2011 ten como principais obxectivos a selección dos animais cara a facilidade de parto, ganancia media diaria de peso e as características de rendemento cárnico e calidade da canal. Para acadarse, defínense tres fases no programa: i) selección dos becerros para o centro de testaxe, ii) valoración individual dos becerros no centro de testaxe, iii) valoración interrebaño das ganderías conectadas (Altarriba & ACRUGA, 2011).

### **Estado actual**

Actualmente a raza conta cun censo de, entorno a, 32.400 animais (MAPA, 2021) (dos cales, máis dun 60% son reprodutoras (ACRUGA, 2022b)), aínda que se atopa nun estado de recesión tanto en número de reprodutoras como en número de explotacións, que a finais do 2021 se situaban en 1.326, cun tamaño medio de 24 animais (MAPA, 2021). A día de hoxe, considérase unha raza moi valorada no sector cárnico debido, principalmente, ás boas aptitudes maternais e a produción de carne de alta calidade para o consumo cualificado (Altarriba & ACRUGA, 2011).

Segundo o Regulamento Específico do libro xenealóxico da Rubia Galega (MAGRAMA, 2012) o estándar racial queda definido segundo as seguintes características:

- A capa será fundamentalmente rubia, trigueira ou teixa e presentará mucosas rosáceas, ausentes doutra pigmentación.
- A configuración xeral caracterizarase por ser equilibrada, con lonxitude e profundidade, cun perfil recto (ou lixeiramente subconvexilíneo).
- Será un animal musculado en conxunto, de pescozo firme e curto, cruz pouco destacada e arredondada, costas longas e anchas, coa liña dorso-lumbar horizontal e nádegas convexas e descendidas (principalmente nos machos).
- En canto aos membros, o biotipo busca extremidades robustas, apromos que doten ao animal dun movemento áxil e lixeiro, e pezuño arredondado e proporcionado.

Mentres que a selección xenética tradicional asistida por marcadores non acadou o potencial esperado na cría animal debido á complexidade dos rasgos de interese (Meuwissen, Hayes, & Goddard, 2016), dende o 2009, coa publicación da secuencia completa do xenoma do vacún (*Bos taurus*) por parte do Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium and the Bovine HapMap Consortium (Tellam et al., 2009), ábrese un novo escenario de recursos para o estudo evolutivo da especie e aparecen ferramentas para acelerar o proceso de selección e mellora (Elsik, Tellam, & Worley, 2009; Tellam et al., 2009). Deste modo a selección xenómica érguese como mellor opción, fronte á tradicional, grazas ao descubrimento de grandes cantidades de marcadores xenéticos (polimorfismos de un só nucleótido, SNP, polas súas siglas en inglés “Single-Nucleotide Polymorphism”) e procedementos tecnolóxicos que permiten xenotipar, dun xeito economicamente rendible, animais para miles de SNPs (Meuwissen et al., 2016). Os SNPs son a unidade fundamental da variación xenética, consistindo nunha diferenza nun só nucleótido (A, T, C, G) do xenoma entre distintos individuos. Actualmente son amplamente empregados como marcadores debido á súa abundancia (Heaton et al., 2005), estabilidade xenética e a que facilita o xenotipado de alto rendemento; substituíndo, en moitos casos, aos microsátélites (Vignal, Milan, SanCristobal, & Eggen, 2002)

Porén, mentres que no gando vacún leiteiro a aplicación da selección xenómica foi de grande éxito, xa que é un sector que conta cunha soa raza predominante, Frisoa, e cunha excelente testaxe de proxenie; no gando de carne está limitada, xa que: i) hai unha grande cantidade de razas, algunhas delas cun número de individuos reducido; ii) os obxectivos de cría non están definidos ou non son comúns; iii) a testaxe da descendencia non está asentada eficientemente (Van Eenennaam, Weigel, Young, Cleveland, & Dekkers, 2014); iv) a vantaxe económica non é tan atractiva como no sector lácteo (Meuwissen et al., 2016)

Con todo, a valoración xenética do gando de carne mediante SNPs continúa a ser de grande interese, presentando múltiples vantaxes fronte a outras vías tradicionais, como a valoración da proxenie, xa que: i) presenta unha alta precisión de valores xenéticos (en torno ao 80%) (Schaeffer, 2006); ii) pódese realizar ao nacemento; iii) reduce os custos (a testaxe tradicional comporta gastos de aloxamento, alimentación, extracción e almacenamento de seme, incentivos para gandeiros, etc.); iv) acelera a selección reducindo os intervalos xeracionais (Schaeffer, 2006). De feito, en España e Europa xa se empregaron paneis de SNPs para caracterizar razas de carne e son importantes na cría de animais empregándose cada vez máis e con bos resultados en probas de parentesco e identificación bovina (Fernández et al., 2013), así como en estudos de diversidade xenética e estimación das relacións filoxenéticas (Decker et al.,

2014), xa que permiten o estudo a grande escala das poboación de bovinos (Deepti Joshi et al., 2012).

A Rubia Galega tamén se incorpora nesta nova fase de mellora xenética a través do proxecto de “Implementación dun programa de selección xenómica da raza Rubia Galega (*Bos taurus*) utilizando un chip de SNPs de alta densidade” (FEADER 2019/053A) no que participaron a Universidade de Santiago de Compostela (USC), Universidad de Zaragoza (UNIZAR), Xenética Fontao e Asociación de Criadores de Rubia Galega (ACRUGA). A análise da diversidade e estruturación xenética da cabana galega de RG foi un dos primeiros obxectivos de dito proxecto, no que se enmarca parte deste traballo fin de grao.

## **Trazabilidade**

---

O Regulamento da Comisión Europea nº178/2002 (CE, 2002) define a trazabilidade como “a posibilidade de atopar e seguir o rastro, a través de todas as etapas de produción, transformación e distribución, dun alimento, un penso, un animal destinado á produción de alimentos ou unha substancia destinada a ser incorporada en alimentos ou pensos ou con probabilidade de selo”.

En Europa, o interese pola produción local sufriu un grande incremento nas últimas décadas (Murdoch, 2000; Ilbery & Maye, 2005), sendo proba diso a aprobación de lexislación europea no marco dos selos de calidade como a “Indicación Xeográfica Protexida (IXP)”, “Denominación de Orixe Protexida (DOP)” ou “Especialidades Tradicionais Garantidas” (ETG) (CE, 2014). Con estas cualificacións, non só se consegue apoiar á produción rexional (Marsden, Banks, & Bristow, 2002; Goodman, 2004), senón que tamén o consumidor, cada día máis concienciado co modo de explotación e orixe dos alimentos, é protexido do fraude ou imitación mediante o reforzo da trazabilidade.

A calidade da carne de vacún non está unicamente influenciada pola idade do animal ao sacrificio, alimentación ou sistema de produción, senón que a raza tamén representa un parámetro fundamental para acadar esta (Cafferky et al., 2019). Deste modo, as IXP “Ternera Gallega” de categoría “suprema”, “Vaca galega” e “Boi galego”, no seu regulamento (Consellería do Medio Rural, 2017) presentan esixencias raciais, onde se indica que o gando apto será da raza Rubia Galega ou do grupo racial de Morenas Galegas (Cachena, Caldelá, Frieiresa, Limiá e Vianesa). Estes requirimentos non responden só a un compromiso coa gandaría galega, senón tamén a uns parámetros de calidade da carne establecidos que o consumidor paga e ten dereito a percibir. Dotar a estes selos de calidade e empresas de ferramentas para ter un control sobre estes parámetros é básico para manter a calidade do produto e protexer ao consumidor do fraude. De xeito clásico, isto levouse a cabo por medio de auditorías baseadas en controis mediante técnicas visuais e biométricas de difícil estandarización, e/ou sobre documentación, porén estes controis

non sempre son o suficientemente robustos para un control eficaz de parámetros xenéticos, como a raza. Con todo, o avance da tecnoloxía molecular abre novas portas a través do estudo do ácido desoxirribonucleico (ADN) que permite un control tanto sobre o animal coma sobre o produtos derivados deste, podendo determinar, en múltiples fases da produción, o sexo, a raza, a poboación de orixe, a filiación, etc. ou ben, verificar a eficacia dos métodos tradicionais de auditoría (Negrini et al., 2008).

As probas de ADN teñen, ademais, a vantaxe de ser repetibles e estandarizables, a diferenza dos métodos de auditoría convencional. Ademais, as mostras biolóxicas que permiten o estudo son múltiples, tratándose dunha molécula bastante estable á temperatura e cuxos resultados son independentes da idade ou sexo do animal (evitando, por exemplo, o enmascaramento do prototipo racial debido a idade temperá do animal) (Lenstra, 2003).

## **OBXECTIVOS**

Este traballo fin de grao ten como obxectivo definir a estrutura xenética da raza Rubia Galega en Galicia para asentar as bases que lle permitan acadar o seu potencial produtivo, comercial e ecolóxico.

Na mesma liña de promoción da raza, o traballo tamén ten por obxectivo definir un panel dun número reducido de SNPs que permitan diferenciar individuos ou produtos derivados de raza Rubia Galega pura doutras razas autóctonas españolas, Asturiana dos Vales (AV) e Pirenaica (Pi), e unha raza europea de carne moi presente no panorama galego, a Limousin (Li), ou os cruces destas razas con Rubia Galega (F<sub>1</sub>); coa fin de dotar á industria dunha ferramenta de trazabilidade para o control da calidade e transparencia dos seus produtos que protexa, ademais, aos consumidores.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a realización deste traballo tomouse como partida a base de datos de Rubia Galega elaborada no marco do mencionado proxecto, que consta da identificación dos animais, datos xenéticos, produtivos e reprodutivos, xeográficos, etc. Para a ferramenta de trazabilidade os datos xenotípicos das razas autóctonas españolas Asturiana dos Vales e Pirenaica foron cedidos por Luis Varona (Catedrático do Departamento de Anatomía, Embrioloxía e Xenética Animal da UNIZAR) (Cañas-Álvarez et al., 2015); e da raza Limousin tomáronse do repositorio público de xenotipos WIDDE (polas siglas en inglés de “Web-Interfaced next generation Database dedicated to genetic Diversity Exploration”) (Sempéré et al., 2015).

No caso dos individuos de Rubia Galega, cóntase con datos específicos de procedencia (concello), o que permitiu facer un reconto dos animais por comarcas e provincias (**Táboas 1 e 2**). Deste modo, para este traballo fin de grao, contouse cun total de 3.482 animais (2.566 femias e 916 machos) distribuídos polas catro provincias deste modo: A Coruña 224 animais, 189 femias e 35 machos; Lugo 3.069 animais, 2.265 femias e 804 machos; Ourense 155 animais, 84 femias e 71 machos; e Pontevedra 34 animais, 28 femias e 6 machos. O total de marcadores SNPs iniciais na base de datos era de 66.796.

Do resto de razas foron empregados: 75 xenotipos de Asturiana dos Vales, 72 xenotipos de Pirenaica e 87 xenotipos de Limousin.

**Táboa 1.** Reconto do número de femias de Rubia Galega xenotipadas presentes na base de datos na Comunidade Autónoma de Galicia, as súas provincias e comarcas.

Galicia	2566	A Coruña	189	A Coruña	26
				Arzúa	50
				Bergantiños	9
				Betanzos	5
				Eume	2
				Ferrol	36
				Fisterra	9
				Ordes	9
				Ortegal	17
				Santiago	3
				Terra de Melide	29
				Xallas	3
		Lugo	2265	A Fonsagrada	164
				A Mariña Central	7
				A Mariña Occidental	15
				A Mariña Oriental	17
				A Ulloa	120
				Chantada	9
				Lugo	572
				Meira	36
				Os Ancares	591
				Quiroga	11
				Sarria	552
				Terra Chá	142
				Terra de Lemos	29
		Ourense	84	A Limia	9
				Allariz-Maceira	5
				Baixa Limia	4
				O Carballiño	10
				Ourense	14
				Terra de Caldelas	26
				Terra de Trives	7
				Valdeorras	1
				Verín-Monterrei	5
				Viana	3
		Pontevedra	28	Deza	28

**Táboa 2.** Reconto do número de machos de Rubia Galega xenotipados presentes na base de datos na Comunidade Autónoma de Galicia, as súas provincias e comarcas.

Galicia	916	A Coruña	35	A Coruña	3
				Arzúa	6
				Bergantiños	1
				Betanzos	4
				Eume	1
				Ferrol	9
				Fisterra	2
				Ordes	1
				Ortegal	2
				Santiago	1
				Terra de Melide	4
				Terra de Soneira	1
		Lugo	804	A Fonsagrada	54
				A Mariña Central	4
				A Mariña Occidental	1
				A Mariña Oriental	4
				A Ulloa	36
				Chantada	4
				Lugo	313
				Meira	6
				Os Ancares	185
				Quiroga	8
				Sarria	152
				Terra Chá	35
				Terra de Lemos	2
		Ourense	71	A Limia	4
				Allariz-Maceira	8
				Baixa Limia	3
				O Carballiño	1
				Ourense	4
				Terra de Caldelas	33
				Terra de Celanova	1
				Terra de Trives	8
				Verín-Monterrei	4
				Viana	5
		Pontevedra	6	Deza	6

Antes da realización das análises, levouse a cabo un filtrado dos xenotipos en función da súa calidade empregando o software PLINK 1.9 (Purcell et al., 2007). Escolleuse este programa xa que: i) é de sinxelo uso (instalación, execución, etc.), ii) está dispoñible en formato multiplataforma, iii) manexa de xeito áxil os datos, procesando sen problema miles de marcadores e dando lugar a arquivos lixeiros e prácticos; e iv) está moi estendido no eido científico (masa editorial, referencias, etc.).

O comando a executar foi: `plink --bfile --cow --geno 0.1 --mind 0.25 --maf 0.01 --out`.

`--cow`: xa que PLINK 1.9 é unha aplicación orixinalmente creada para a especie humana, se queremos procesar datos doutras especies, debemos avisar ao programa para que se adapte ao número de cromosomas da especie a estudar. No caso do vacún, o software xa conta cun comando propio (Purcell et al., 2007).

`--gen 0.1`: indica que os SNPs cun “missing call rate” superior a 0,1 (10%) serán filtrados. Isto quere dicir que quedarán os marcadores xenotipados en, polo menos, un 90% dos individuos; aportando robustez aos datos.

`--mind 0.25`: filtra aqueles individuos con menos dun 75% dos marcadores xenotipados, coa fin de eliminar mostras con datos deficientes.

`--maf 0.01`: fai referencia á “minor allele frequency” (MAF). Este comando permite filtrar aqueles SNPs cuxo alelo menos frecuente estea a unha frecuencia menor do 1%. Deste xeito consérvanse os alelos pouco frecuentes, pero son filtrados aquelas variantes excesivamente raras que podan deberse a un erro no xenotipado.

## **Análise de estrutura**

---

Levouse a cabo unha análise de estrutura empregando o software ADMIXTURE (Alexander, Novembre, & Lange, 2009) coa fin de identificar a estruturación xenética da raza Rubia Galega no territorio galego. Este programa estima a ascendencia de individuos non relacionados mediante o estudo dos SNP’s autosómicos xenotipados e as súas frecuencias alélicas. Para isto o programa precisa un arquivo de entrada tipo PLINK e a hipótese sobre o número de poboacións ancestrais esperadas (K). A aproximación á posible estrutura fíxose tomando como hipótese inicial o número de provincias da comunidade (K=4) co fin de atopar nesta división xeográfica algún indicio de estrutura xenética.

## **Análise de FST**

---

Para o estudo da diferenciación xenética empregouse o valor de FST mediante o software Genepop 4.7 (Raymond & Rousset, 1995; Rousset, 2008). O FST é un coeficiente calculado a

partir das frecuencias alélicas que permite determinar a deficiencia de heterocigotos nunha poboación total en relación ás subpoboacións de estudo. Inicialmente empregouse a mesma hipótese que na análise anterior, establecendo coma subpoboacións as catro provincias galegas. Posteriormente, e tendo en conta que as provincias poderían non ter mostrado unha posible estruturación, realizouse o mesmo estudo empregando as comarcas como subpoboacións xa que son entidades xeográficas que poden ter maior relevancia á hora de favorecer a presenza de estrutura poboacional. Para esta última análise foron excluídas aquelas comarcas con menos de 10 animais, entre machos e femias por falta de representatividade.

### **Panel de SNPs de diferenciación racial**

---

De cara a seleccionar un panel de número reducido de marcadores xenéticos o máis eficaz posible para diferenciar á Rubia Galega das outras tres razas de estudo, partiuse dos SNPs xa filtrados mediante PLINK 1.9. Para iso calculouse, en primeiro lugar, o valor de  $F_{ST}$  e o seu valor de significación (p-valor) a través do programa Genepop 4.7, e ordenáronse os marcadores presentes en todas as razas polo seu valor de significación. Para este cálculo seguíronse tres estratexias: i) cálculo da  $F_{ST}$  total, ii)  $F_{ST}$  por pares de razas (AV/Li, AV/Pi, AV/RG, Li/Pi, Li/RG, Pi/RG), iii)  $F_{ST}$  por pares só con Rubia Galega (AV/RG, Li/RG, Pi/RG).

Unha vez ordenados os tres paneis de SNPs, seleccionáronse os 200 primeiros marcadores no caso da estratexia i) e ii), e os 147 que cumprían as esixencias de significancia (p-valor < 0,001) na estratexia iii), e levouse a cabo un estudo estatístico mediante DAPC (das siglas en inglés de “discriminant analysis of principal components”) para facer unha valoración da súa eficacia. Isto realizouse mediante o software R 4.1.2 (R Core Team, 2021) empregando o paquete adegenet 2.1.7 (Jombart, 2008; Jombart & Ahmed, 2011) que permite un procesado estatístico e gráfico dos datos rápido e estandarizado.

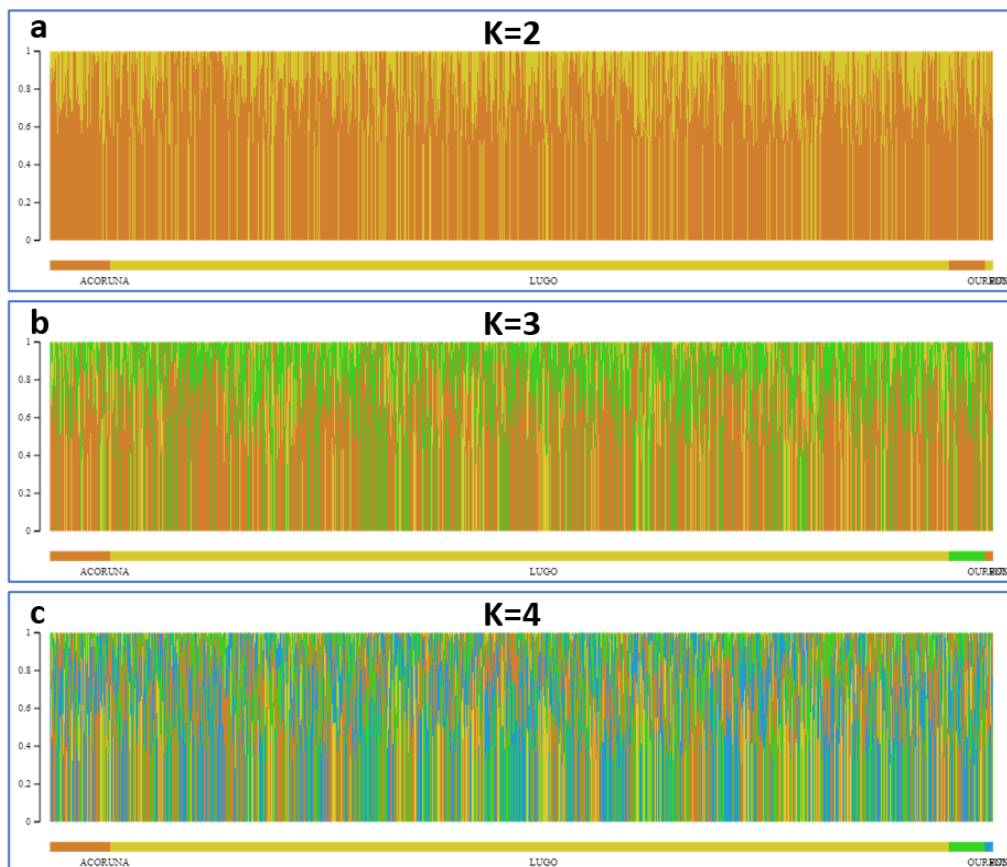
Empregouse HYBRIDLAB 1.0 (Nielsen, Bach, & Kotlicki, 2006), software que ten como fin o estudo da hibridación natural ou artificial, para determinar o grao de eficacia do panel de SNPs seleccionados. Deste modo, a partir de poboacións de animais puros xenotipados das diferentes razas (“Rubia\_Ref”, “Asturiana\_Ref”, “Limousin\_Ref”, “Pirenaica\_Ref”) xéranse, por pares (RG-AV, RG-Li, RG-Pi), dúas poboacións de 500 individuos cada unha a partir das frecuencias alélicas calculadas dos animais de referencia. A continuación, xérase unha nova poboación  $F_1$  de 500 individuos extraendo un alelo en cada locus segundo as frecuencia calculadas e asumindo que o apareamento é aleatorio.

Mediante o programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard, Stephens, & Donnelly, 2000) os individuos simulados asígnanse a cada categoría definida polo escenario creado (neste caso 3 categorías: liñas puras e  $F_1$ ). O software leva a cabo esta clasificación agregando progresivamente

os SNPs máis diverxentes (de maior a menor  $F_{ST}$ ) un por un até acadar os 100 marcadores. O valor límite que emprega STRUCTURE 2.3.4 para asignar os individuos aos diferentes grupos é o valor medio de  $q$  entre clases adxacentes, que no escenario do presente estudo son  $q=0,25$  e  $q=0,75$ .

## RESULTADOS

Partiuse da matriz orixinal de 3.482 individuos e 66.796 SNPs. Mediante PLINK 1.9 levouse a cabo un filtrado dos datos que deu como resultado: i) 0 individuos filtrados con  $-mind\ 0.25$ , ii) 12.798 SNPs filtrados con  $-geno\ 0.1$ , iii) 10.914 SNPs filtrados con  $-maf\ 0.01$ . Polo tanto, os datos efectivos finais para os estudos posteriores son 3.482 individuos e 43.084 SNPs.

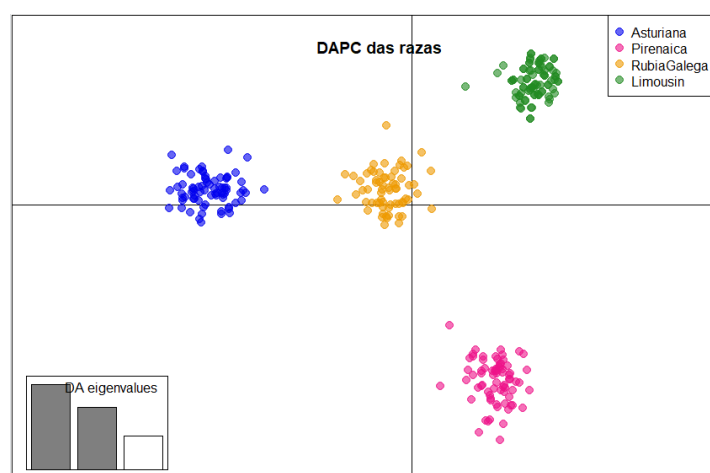


**Figura 1.** Estrutura xenética da Rubia Galega no territorio galego mediante ADMIXTURE. Realizouse de xeito consecutivo partindo de (a) hipótese de 2 poboacións, (b) hipótese de 3 poboacións e (c) hipótese de 4 poboacións (K=4). O gráfico presenta cada un dos individuos presentes na poboación mostrando en cores diferentes a probabilidade de pertencer a cada unha das subpoboacións (K) de cada hipótese.

Os datos extraídos do estudo de estrutura xenética mediante ADMIXTURE (**Figura 1**) non amosan presenza de poboacións xeneticamente diferenciadas. Esta información é coincidente coa aportada polos valores de  $F_{ST}$  por provincias (**Táboa 3**) e comarcas, onde non hai diferenzas significativas, o valor máis elevado de  $F_{ST}$  para as provincias é o de Pontevedra-Ourense, de 0,0068; e para as comarcas o de Valdeorras-Terra de Celanova, de 0,49. Para levar a cabo estes estudos foron eliminadas os individuos das seguintes comarcas: Betanzos, Eume, Santiago, Xallas, Terra de Soneira, Baixa Limia, Celanova, Valdeorras, Verín-Monterrei e Viana;

por presentar menos de 10 individuos xenotipados na base de datos (entre machos e femias **Táboas 1 e 2**).

Tras os estudo de DAPC comprobouse que a selección do panel de SNPs segundo a FST total é a mellor opción, xa que diferencia eficientemente as catro razas de estudo (**Figura 2**) Esta eficacia comprobouse na simulación realizada mediante HYBRIDLAB 1.0 (**Figura 3**), onde se viu que a Rubia Galega nunha situación con individuos puros e F<sub>1</sub>: i) con Asturiana dos Vales presenta unha clasificación correcta superior ao 90% para as estirpes puras con, en torno a, 25 SNPs; para F<sub>1</sub> superior ao 80% con 50 SNPs e superior ao 90% con 65 SNPs (**Figura 3a**); ii) con Limousin presenta unha clasificación correcta superior ao 90% para as liñas puras cun panel de 20 SNPs, e cun panel de 40 e 50 SNPs acada o 80% e 90%, respectivamente, de clasificación correcta para a F<sub>1</sub> (**Figura 3b**); iii) con Pirenaica presenta unha clasificación correcta dos individuos puros superior ao 90% con 40 SNPs (aínda que con, entorno a, 20 marcadores pódense clasificar os individuos puros da raza de interese, a RG), e en canto a F<sub>1</sub> precisa de 70 e 80 SNPs para acadar o 80% e 90%, respectivamente (**Figura 3c**).

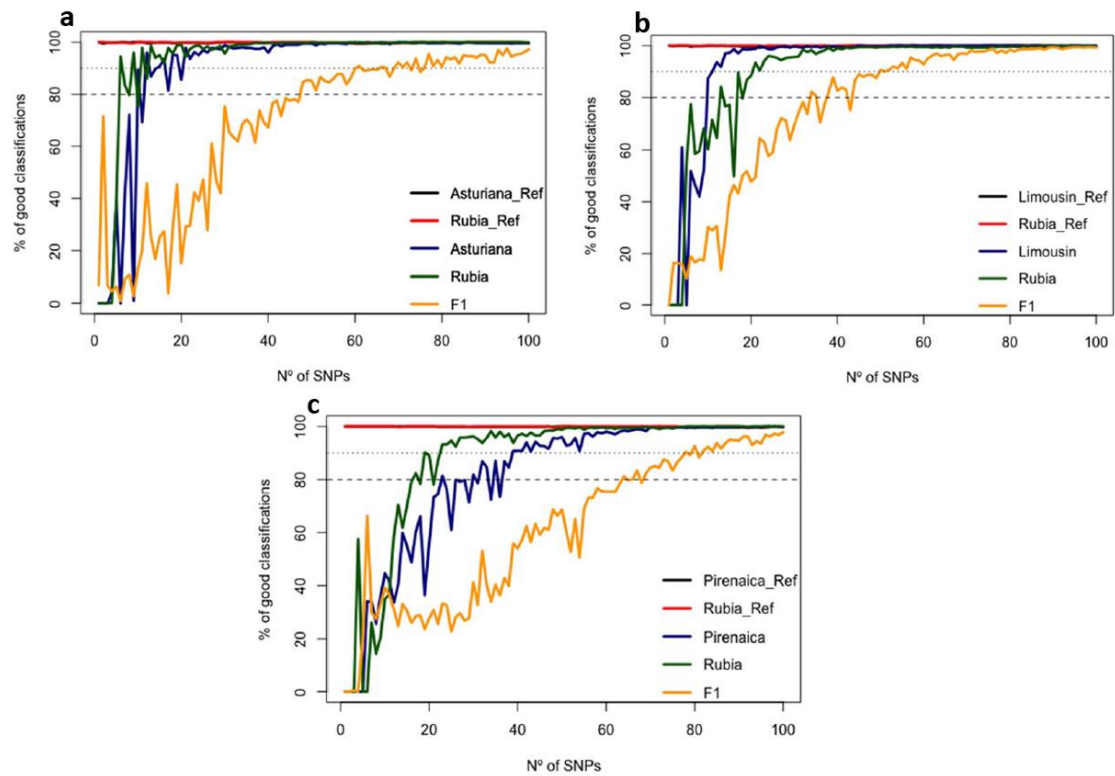


**Figura 2.** Agrupación das mostras das 4 razas de estudo para 200 SNPs mediante DAPC. DAPC: Análise discriminante de compoñentes principais; SNP: Polimorfismo dun Só Nucleótido.

**Táboa 3.** Resultados do estudo de FST por provincias. Na matriz superior reflíctese a significación, e na inferior o valor de FST.

	A Coruña	Lugo	Ourense	Pontevedra
A Coruña		<i>High.sign.</i>	<i>High.sign.</i>	<i>High.sign.</i>
Lugo	0,0016		<i>High.sign.</i>	<i>High.sign.</i>
Ourense	0,0036	0,0029		<i>High.sign.</i>
Pontevedra	0,0058	0,0052	0,0068	

High.sign.: alta significación.



**Figura 3.** Éxito na clasificación das diferentes poboacións de razas simuladas e a F<sub>1</sub> híbrida empregando até 100 SNPs. Os gráficos presentan a porcentaxe de individuos correctamente clasificados segundo o número de SNPs empregados para as poboacións de referencia (\_Ref cor negra e vermella), as poboacións simuladas (cor azul e verde), e os cruces destas (F<sub>1</sub> cor amarela). **(a)** Rubia Galega con Asturiana dos Vales; **(b)** Rubia Galega con Limousin; **(c)** Rubia Galega con Pirenaica. SNP: Polimorfismo dun Só Nucleótido.

## DISCUSIÓN

Os datos amosan que a poboación de Rubia Galega no territorio galego presenta unha estrutura xenética homoxénea, sen poboacións xeneticamente diferenciadas a nivel provincial ou comarcal. Esta ausencia de estrutura explícase por unha interconexión entre as comunidades gandeiras e as explotacións de toda Galicia. Un dos factores máis relevantes que puido influír na homoxeneización da raza a nivel xenético é a inseminación artificial cuxa importancia xa destaca Bouquet et al. (2011) cos estudos de estrutura xenética levados a cabo en Charolesa e Limousin. De feito na RG, a IA, ten un uso notablemente maior ao doutras razas autóctonas (Mouresan et al., 2016). O seu uso é notablemente elevado dende a segunda metade do século XX debido ao traballo da Estación Pecuaria de Lugo e Fontefiz que axudaron a que a súa aplicación se estendese de xeito eficaz. O feito de que os animais da raza RG presenten unha actitude dócil, facendo do seu manexo unha actividade sinxela e segura pola vinculación directa e estreita co produtor (feito facilitado pola estrutura minifundista do territorio galego e a cría tradicional do animal que obriga a este contacto constante (Carreira-Pérez & Carral-Vilariño, 2015)), tamén axuda a que esta técnica estea máis estendida nesta raza ca noutras (Mouresan et al., 2016). Pero a día de hoxe tamén segue a ser un fito dentro da produción das razas autóctonas españolas e europeas, xa que, polo xeral, estas basean a súa mellora no traballo de pequenas asociacións de criadores, con escaso desenvolvemento da IA (Blasco, 2021). Deste modo, mentres que na RG tan só o 1,79% dos animais reprodutivos son machos, en razas como Asturiana dos Vales (AV) ou Pirenaica (Pi) chegan ao 5,59% e 4,76% respectivamente. Estes datos explican a maior implantación da IA fronte á monta natural (MN) en moitos rabaños da RG, que non ocorre, polo menos dun xeito tan marcado, noutras razas do estado español; xa que mentres que a RG presenta un 19% dos machos para IA, a cabana de AV conta, tan só, cun 2,59% dos machos dispoñibles para IA, os rabaños de vacas Pi cun 4,49% de machos para IA, e a raza Avileña tan só cun 2,46% dos machos empregados para IA (MAPA, 2021). Aínda que este datos é moi indicativo da extensión desta técnica, non é de todo real, xa que uns poucos machos poden cubrir un gran número de femias por IA, porén o acceso aos datos do seu uso é complicado nas razas autóctonas españolas. Nunha comunicación persoal, ACRUGA reporta que un 43% dos fillos nados no 2021 son de IA.

Esta normalización da IA na produción de Rubia Galega favorece a testaxe dos touros e aporta robustez aos datos recollidos nas explotacións, favorecendo a aplicación da mellora xenética; que ademais está sustentada e promocionada por empresas e institucións de ámbito público coma Xenética Fontao S.A. que favorecen o avance nesta materia mediante a selección de touros, extracción e conservación do seme, creación de catálogos de reprodutores, e desenvolvemento de proxectos específicos en materia reprodutiva, etc. (Xenética Fontao, 2022).

Outra peza fundamental para comprender esta ausencia de estrutura está no Centro de recría da granxa Gaioso-Castro, onde os animais mercados por ACRUGA no primeiro ano de

idade (tras unha valoración técnica a nivel xenealóxico, morfolóxico e sanitario) son mantidos para i) formar parte do rabaño de elite para a difusión da raza, no caso dos mellores exemplares, ii) venda directa a novos gandeiros de ACRUGA ou iii) poxa pública (ACRUGA, 2022a); favorecendo así a presenza de animais de moi diversas orixes xeográficas nos rabaños, coa consecuente dilución da estrutura xenética.

O coñecemento da estrutura e diversidade xenética das poboacións de gando vacún é esencial para a súa mellora, e no marco das razas autóctonas, para a súa promoción e protección (Makina, Muchadeyi, van Marle-Köster, MacNeil, & Maiwashe, 2014) debido, principalmente, a que unha correcta interpretación das predicións xenómicas depende da presenza, ou non, de subpoboacións diferenciadas (Werner et al., 2020; Windhausen et al., 2012). Actualmente, ante un avance da demanda de carne a nivel global, as estratexias no sector cárnico poden pasar pola importación de razas estranxeiras (coma xa pasou noutros países; de Rezende, Malhado, Biffani, Souza Carneiro, & Bozzi, 2020; Sasazaki, Mutoh, Tsurifune, & Mannen, 2007; Widi et al., 2021) se non se leva a cabo un esforzo no marco da mellora das razas autóctonas, coa fin de aumentar a súa rendibilidade e fiabilidade.

Este tipo de estudos xa están amplamente estendidos intra- e interpoboacionalmente en moitas razas europeas de carne (Beghain et al., 2013; Bouquet et al., 2011; Cañas-Álvarez et al., 2015; Cooper et al., 2016; Eusebi, Gardyn, Boxberger, & Ferreras, 2018; Jordana et al., 2003), e especialmente nas razas francesas, cuxas estruturas foron estudadas, incluso, nas poboacións fóra do país natal (de Rezende et al., 2020; Szűcs et al., 2019); e aínda que se empregan diferentes marcadores xenéticos, os SNPs parecen ser a mellor opción (Eusebi et al., 2018).

Por outra banda, e en base aos resultados obtidos do estudo da estrutura xenética da Rubia Galega en Galicia, levouse a cabo un panel de SNPs para a diferenciación racial. Para poder cualificar dun xeito máis certo esta ferramenta desenvólta como eficaz, sería ideal contar con outros estudos parecidos realizados en gando vacún. Nun marco similar ao abordado no presente traballo coa Rubia Galega, levouse a cabo un estudo na raza Pirenaica coa fin de determinar unha serie de marcadores xenéticos (STR, polas súas siglas en inglés “short tandem repeats”) para protexer aos produtos elaborados con esta raza, altamente valorados na rexión, doutros procedentes de gando Limousin ou Blonde d’Aquitaine moi presente no mesmo territorio (Gamarra et al., 2020). Outro exemplo atopámolo en Xapón, onde se desenvolveron ferramentas xenéticas similares para poder diferenciar as liñas puras da raza Negra Xaponesa, de gran valor comercial, dos seus cruces con Frisoa, dificilmente distinguibles fenotipicamente, dando como resultado un panel eficaz mediante marcadores AFLP (polas súas siglas en inglés “amplified fragment length polymorphism”) (Sasazaki et al., 2004). No estudo de Sasazaki et al. (2004) os marcadores AFLP foron transformados nun panel efectivo de 6 SNPs, esta grande diferenza entre

este número de marcadores e os desenvolvementos no presente traballo fin de grao explícase, principalmente, pola alta proximidade filoxenética entre as razas españolas e francesas autóctonas, fronte ao afastamento entre unha raza asiática e unha raza europea; ademais, o estudo de Wilkinson et al. (2011) demostra que o número de SNPs necesarios é moi variable entre razas. Sasazaki et al. (2007) definen unha nova serie de marcadores xenéticos (STR) para diferenciar, esta vez, os individuos, ou produtos derivados destes, de raza Negra Xaponesa doutras razas de carne australianas de importación. Ademais, a identificación racial mediante SNPs xa se mostrou exitosa anteriormente con razas coma a Ayrshire (Cooper, Wiggans, Null, Hutchison, & Cole, 2014) ou Guernsey (Cooper et al., 2016) en Estados Unidos.

Porén, estes estudos mencionados non son equiparables ao presente traballo, xa que usan marcadores xenéticos tradicionais (STR, AFLP, microsátélites) aínda que sexan na actualidade menos empregados que os SNPs (Davey et al., 2011; Vignal et al., 2002). Isto está relacionado co momento da publicación destes estudos ou da análise das mostras empregadas neles, momento no cal o uso deste tipo de marcadores era máis habitual. Por outra banda, os estudos mencionados onde se empregan SNPs céntranse na identificación racial de liñas puras sen considerar as  $F_1$  que reducen a capacidade de diferenciación dos marcadores. Para atopar estudos con maior similitude no marco da produción animal hai que ir até a acuicultura, onde atopamos diferentes traballos que buscan diferenciar liñas de peixes comerciais das salvaxes (Liu, Palti, Martin, Parsons, & Rexroad, 2017; Zhao et al., 2019) e incluso os seus cruces (Prado et al., 2018).

No presente estudo un panel de 70 SNPs permite unha boa identificación racial (máis dun 80% dos individuos correctamente asignados) para as tres razas tanto no escenario de liñas puras coma no de  $F_1$ . Ademais, limitándonos á identificación de RG de liña pura (principal interese no caso da trazabilidade para a IXP “Ternera gallega” categoría “suprema”) serían suficientes 20 marcadores. A modo de exemplo, foron consultadas as tarifas do Servizo Central de Soporte á Investigación Experimental (SCSIE), da Universidade de Valencia, que desenvolve chips para a aplicación práctica deste tipo de marcadores, vendo que por menos de 5 euros por mostra se podería coñecer a pertenza, ou non, dun produto á liña pura de RG (SCSIE, 2022).

As diverxencias que se atopan na eficacia do panel de SNPs para diferenciar a Rubia Galega de Limousin, de Asturiana dos Vales e de Pirenaica poden explicarse, en parte, pola orixe e conexión xenética delas. Deste modo, a raza que se atopa máis afastada xeograficamente da RG é tamén a que ofrece mellores resultados para a diferenciación da  $F_1$ , a Limousine. Por outro lado, a Asturiana dos Vales e a Pirenaica presentan maior dificultade para a diferenciación dos cruces, o que pode estar explicado pola orixe común das razas bovinas de carne autóctonas de España (Beja-Pereira et al., 2003). Concretamente no caso da Pi, a ferramenta presenta unha menor eficacia, isto pode explicarse debido á súa orixe ancestral procedente do tronco Turdetano, ao

igual que a RG (Cañas-Álvarez et al., 2015). A AV, pola súa banda, presenta un maior grao de diferenciación que a Pi, o que pode estar explicado pola súa procedencia do tronco Cantábrico.

O interese desta ferramenta en base a un panel de SNPs recae na trazabilidade racial sobre os animais ou a carne cun alto valor comercial, como poden ser as liñas de carne diferenciada da IXP “Ternera Gallega” de categoría “suprema” (Consellería do Medio Rural, 2017). A principal utilidade pode ir na liña da verificación da eficacia dos controis tradicionais visuais e biométricos levados a cabo polos técnicos. Estes son necesarios debido a que a IXP non presenta requirimentos de rexistro no libro xenealóxico das razas (ACRUGA e BOAGA (Federación de razas autóctonas de Galicia)) debido a que responde a intereses comerciais e de calidade e non de conservación e promoción das razas autóctonas, eido no que si traballan estas entidades. Polo tanto, esta circunstancia fai posible que existan fraudes debido a cruces, xa que, a pesar de que a raza da liña materna é máis doada de controlar, a importante presenza e extensión da IA na raza RG (Mouresan et al., 2016) facilita o emprego dunha liña paterna dunha raza non contemplada do Regulamento da IXP (RG ou Morenas Galegas) (Consellería do Medio Rural, 2017). Este aspecto vese reforzado pola menor porcentaxe de partos en pureza que ten a raza RG con respecto a outras razas, situándose nun 85,51% (lonxe, por exemplo, do 93% da AV) segundo os datos censuais do Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación a 31/12/2021.

Con esta premisa, para a elaboración deste estudo, buscouse comparar a RG coas razas que con maior facilidade poden dar lugar a este tipo de fraude. Deste modo defínense dous grandes grupos: razas autóctonas de carne españolas e razas de carne europeas con grande extensión e de alta fiabilidade.

A pesar do grande número de razas autóctonas que se poden atopar no territorio español, para o presente traballo fin de grao foron seleccionadas as dúas consideradas máis relevantes en canto á posibilidade de fraude. A primeira, a Asturiana dos Vales, é unha raza cun gran número de cabezas orixinarias dun territorio próximo a Galicia, Asturias, e que conta cun censo importante dentro do propio territorio galego, así como na cornixa cantábrica e Castela e León. Trátase dun animal ben adaptado a un sistema de produción similar ao galego, polo tanto, estes animais cumpren con características ben valoradas polos produtores galegos, como a docilidade e adaptación ao terreo (MAPA, 2021). Esta proximidade e características favorables poden facilitar a chegada de animais de AV aos rabaños galegos, principalmente situados na montaña lucense. Proba disto é que, a pesar de ter unha orixe en troncos diferentes (Cañas-Álvarez et al., 2015), estas dúas razas presentan unha gran proximidade xenética como indican os estudos de Cañas-Álvarez et al. (2015) e Cañón et al. (2011).

En canto á segunda raza autóctona, a Pirenaica, trátase de animais máis lonxe xeograficamente pero cun prototipo racial próximo ao da Rubia Galega, principalmente no

aspecto da capa, onde a trigueira é a desexable, e que presentan as mucosas rosadas e aureola arredor dos ollos (MAPA, 2021). Tamén teñen en común outras características morfolóxicas como o perfil recto, o tórax arqueado e o prototipo en conxunto musculado con forte desenvolvemento do pescozo e das nádegas (MAGRAMA, 2012; MAPA, 2021). Estas similitudes poden estar xustificadas, como xa vimos, pola orixe común das dúas razas (Cañas-Álvarez et al., 2015), chegándose a falar desta ascendencia común como tronco rubio (Orozco-Piñán, 2009); e poden dar lugar a parecidos fenotípicos non identificables a nivel visual polos técnicos auditores.

Na orde do outro grande grupo mencionado, as razas de carne europeas amplamente estendidas, atopamos a Limousin. Esta raza, xunto a outras de orixe francés como a Charolesa e a Blonde d'Aquitaine, foron e son empregadas en todo o mundo para a produción de carne tanto en liñas puras coma en cruce (Bouquet et al., 2011). España non é a excepción, e tamén as súas razas autóctonas son sometidas a cruce industrial coa fin de aproveitar as boas aptitudes maternais e os rasgos de rusticidade destas, xunto ás boas e fiables características cárnicas de razas como a Limousin (Blasco, 2021), que ofertan crecementos eficientes e bos desenvolvementos musculares (Bouquet et al., 2011). Súmase a isto a expansión que está a ocorrer no número de animais e explotacións desta raza no territorio español (MAPA, 2021), así como o número de machos dispoñibles para IA, que supera o 50% dos reprodutores (MAPA, 2021). Todas estas circunstancias xeran un ambiente proclive á presenza de cruces industriais na cabana de Rubia Galega con Charolesa e Blonde d'Aquitaine, o que pode derivar en becerros cuxa determinación racial sexa complicada de xeito visual debido á similitude fenotípica entre os xatos de RG e os procedentes dos cruces con estas razas francesas.

Atendendo ao exposto, sería de grande interese a incorporación de estas razas, Charolesa e Blonde d'Aquitaine, no estudo xenético para diferenciación racial, xa que, como foi explicado, cumpren as mesmas características de expansión e importancia no sector que a Limousin (Amigues, Boitard, Bertrand, Sancristobal, & Rocha, 2011; Bouquet et al., 2011); e tamén presentan características fenotípicas achegadas á Rubia Galega (capa clara e mucosas rosadas na Charolesa, e capa trigueira e ollo de perdiz na Blonde d'Aquitaine (MAPA, 2021)). Estas non foron incluídas no presente traballo debido á imposibilidade de acceder a bases de datos cun número suficiente de individuos xenotipados. Con todo, tendo en conta que os estudos indican que as razas bovinas francesas están filoxeneticamente moi próximas entre elas (Blott, Williams, & Haley, 1998; Gautier, Laloë, & Moazami-Goudarzi, 2010), especialmente a Charolesa e Limousin (Moazami-Goudarzi, Laloë, Furet, & Grosclaude, 1997; Bouquet et al., 2011), é de esperar que os resultados de eficacia do panel de SNPs sexan tamén positivos.

Deste modo evidénciase a importancia e o interese que xira en torno á defensa dos rabaños autóctonos e os seus produtos, que acadan alto valor a nivel local. Pero esta protección non pode basearse unicamente no incentivo cara estas razas, senón que hai que dotar aos criadores e industrias de ferramentas de avance e mellora que aporten fiabilidade á cría destes animais, favorecendo así a produción en liñas puras. Este feito ilústrase mediante os datos de partos en pureza, onde razas cunha grande fiabilidade nos parámetros produtivos ubícanse preto ao 100% (Limousin, Charolesa, Blonde d'Aquitaine) en España, mentres que as razas autóctonas cun menor estudo de base presentan porcentaxes moito menores: 85,51% en RG, 61,74% en Pi, 32,29% en Retinta, 53,32% en Avileña, etc. (MAPA, 2021) Así, mentres a porcentaxe de partos en cruce siga a ser tan elevada, ferramentas como a desenvolva no presente traballo fin de grao vólvense básicas para a defensa do patrimonio racial, pero isto non pode ensombrecer o problema subxacente, que é a falta de progreso no que se ven sumidas estas razas, sendo extensamente substituídas debido á intensificación da produción que favorecen as razas foráneas (Widi et al., 2021). De aí nace a importancia do estudo de estrutura xenética levado a cabo neste traballo fin de grao, que senta as bases para o coñecemento doutros aspectos de interese como a consanguinidade, intervalo xeracional ou tamaño efectivo da poboación (de Rezende et al., 2020); e ademais aporta ferramentas xenéticas para mellorar os programas de selección e conservación da raza (Gutiérrez et al., 2003).

## CONCLUSIÓNS

A raza bovina Rubia Galega non presenta estrutura xenética no territorio galego nin por provincias nin por comarcas. Isto pode deberse ao grande emprego da inseminación artificial nesta raza e á estratexia de promoción da mesma seguida por ACRUGA.

O coñecemento da estrutura xenética da Rubia Galega abre as portas á implementación de programas de mellora xenómica máis eficientes que os actuais.

Un panel de 70 SNPs aportaría un bo grao de diferenciación (superior ao 80%) entre as razas Pirenaica, Asturiana dos Vales e Limousin fronte á Rubia Galega, así como os seus cruces ( $F_1$ ) con esta última.

Sería de interese ampliar os estudos de diferenciación racial ás razas francesas (Charolesa e Blonde d'Aquitaine) amplamente estendidas e cun fenotipo similar ao da Rubia Galega.

Cumpriría aplicar o panel de SNPs ás mostras reais de animais ou produtos acollidos á IXP “Ternera Gallega” categoría “suprema” para verificar a eficacia do panel de SNPs desenvolto.

## BIBLIOGRAFÍA

- (SCSIE) Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental. (2022). Genómica y epigenética. Tarifas. Recuperado el 6 de xuño do 2022, de <https://www.uv.es/uvweb/servicio-central-soporte-investigacion-experimental/es/organizacion/ucim/secciones-ucim/genomica-epigenetica/tarifas-1285878141491.html>
- ACRUGA. (2022a). Centro de Recría de la Granja de Gaioso-Castro. Recuperado el 20 de xuño de 2022, de <https://acruga.com/informacion.asp?id=16>
- ACRUGA. (2022b). Rubia Gallega. Censo de animais/Área de difusión. Recuperado el 22 de marzo de 2022, de <https://acruga.com/informacion.asp?id=13>
- Alexander, D. H., Novembre, J., & Lange, K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, *19*, 1655–1664.
- Altarriba, J., & ACRUGA. (2011). *Programa de mejora de la raza bovina Rubia Gallega*.
- Álvarez-González, M. (1951). “Schwytz-Leonesa”, Estudio sobre la heterosis en los mestizos F1. En *II Congreso Internacional Veterinario de Zootecnia. Volumen III* (s. n., pp. 7–20). Madrid.
- Amigues, Y., Boitard, S., Bertrand, C., Sancristobal, M., & Rocha, D. (2011). Genetic characterization of the Blonde d’Aquitaine cattle breed using microsatellite markers and relationship with three other French cattle populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, *128*(3), 201–208. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2010.00890.x>
- Becerra, J., & Sánchez, L. (2000). Características etnozootécnicas de la raza Rubia Gallega. Estructura, situación actual y evolución. *Bovis*, *92*, 13–21.
- Beghain, J., Boitard, S., Weiss, B., Boussaha, M., Gut, I., & Rocha, D. (2013). Genome-wide linkage disequilibrium in the Blonde d’Aquitaine cattle breed. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, *130*(4), 294–302. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2012.01020.x>
- Beja-Pereira, A., Alexandrino, P., Bessa, I., Carretero, Y., Dunner, S., Ferrand, N., ... Cañon, J. (2003). Genetic characterization of Southwestern European bovine breeds: A historical and biogeographical reassessment with a set of 16 microsatellites. *Journal of Heredity*, *94*(3), 243–250. <https://doi.org/10.1093/jhered/esg055>
- Blasco, A. (2021). El bovino de carne. In *Mejora genética animal* (pp. 292–298). Madrid: Síntesis.
- Blott, S. C., Williams, J. L., & Haley, C. S. (1998). Genetic relationships among European cattle

- breeds. *Animal Genetics*, 29(4), 273–282. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.1998.00327.x>
- Bouquet, A., Venot, E., Laloë, D., Forabosco, F., Fogh, A., Pabiou, T., ... Phocas, F. (2011). Genetic structure of the European Charolais and Limousin cattle metapopulations using pedigree analyses. *Journal of Animal Science*, 89(6), 1719–1730. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3469>
- Cafferky, J., Hamill, R. M., Allen, P., O’Doherty, J. V., Cromie, A., & Sweeney, T. (2019). Effect of breed and gender on meat quality of *M. longissimus thoracis et lumborum* muscle from crossbred beef bulls and steers. *Foods*, 8(5), 1–10. <https://doi.org/10.3390/foods8050173>
- Cañas-Álvarez, J. J., González-Rodríguez, A., Munilla, S., Varona, L., Díaz, C., Baro, J. A., ... Piedrafita, J. (2015). Genetic diversity and divergence among Spanish beef cattle breeds assessed by a bovine high-density SNP chip. *Journal of Animal Science*, 93(11), 5164–5174. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9271>
- Cañón, J., García, D., Delgado, J. V., Dunner, S., Telo Da Gama, L., Landi, V., ... Ginja, C. (2011). Relative breed contributions to neutral genetic diversity of a comprehensive representation of Iberian native cattle. *Animal*, 5(9), 1323–1334. <https://doi.org/10.1017/S1751731111000267>
- Cantalapiedra, J. (1999). *Estudio de la influencia del programa de mejora genética en la evolución de la conformación y peso vivo de la raza Rubia Gallega*. Universidade Santiago de Compostela.
- Cantalapiedra, J., Rodríguez, M., Payán, R., Camiña, M., & Iglesias, A. (2016). Evolución morfológica de la raza rubia gallega basada en sus medidas zoométricas e índices etnológicos. En *Raças autóctones no espaço ibérico: um recurso sustentável* (pp. 65–69).
- Cantalapiedra, J., Sánchez, L., & Monserrat, L. (1999). *Evolución de la conformación y peso vivo en la raza rubia gallega por influencia del programa de mejora*. 327–329.
- Carballal-Palmeiro, J. (1932). La Estación Regional Pecuaria de Lugo. *A.C.G.*, 3, N-29, 39.
- Carballal-Palmeiro, J. (1947). Razas gallegas vacunas. En *I Congreso Veterinario de Zootecnia. Volumen II* (s. n., pp. 11–37). Madrid.
- Carreira-Pérez, X. C., & Carral-Vilariño, E. (2015). *O pequeno é grande* (1st ed.). A través Editora.
- CE (Comisión Europea). (2002). Reglamento (CE) n° 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos

generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan pr. *DOCE*, 31, 24.

CE (Comisión Europea). (2014). Reglamento Delegado (UE) n° 664/2014 de la Comisión, de 18 de diciembre de 2013, por el que se completa el Reglamento (UE) n° 1151/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que se refiere al establecimiento de los símbolos de la Unión para las denom. *DOUE*, 179, 17–22.

Conde-Gómez, D. (2013). *Veterinaria e mellora pecuaria na Galicia contemporánea. O papel de Juan Rof Codina*. Universidade Santiago de Compostela.

Conde-Gómez, D., Cifuentes, J. M., & Fernández Prieto, L. (2010). La etskación pecuaria de Lugo (1932-1962). En *Libro de ponencias y comunicaciones del XVI Congreso Nacional y VII Iberoamericano de historia de la veterinaria* (Diputación, pp. 379–384).

Consellería do Medio Rural. (2017). ORDE do 23 de xuño de 2017 polo que se aproba o Regulamento das indicacións xeográficas protexidas Ternera Gallega e Vaca e Boi de Galicia/ Vaca y Buey de Galicia e o seu consello regulador común e nómbrase o consello regulador provisional. *DOG*, 124, 32088.

Cooper, T. A., Eaglen, S. A. E., Wiggans, G. R., Jenko, J., Huson, H. J., Morrice, D. R., ... Woolliams, J. A. (2016). Genomic evaluation, breed identification, and population structure of Guernsey cattle in North America, Great Britain, and the Isle of Guernsey. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5508–5515. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10445>

Cooper, T. A., Wiggans, G. R., Null, D. J., Hutchison, J. L., & Cole, J. B. (2014). Genomic evaluation, breed identification, and discovery of a haplotype affecting fertility for Ayrshire dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3878–3882. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7427>

Cuezva-Samaniego, J. (1951). Influencia de la raza “Schwytz” sobre la población bovina de Vizcaya. En *II Congreso Internacional Veterinario de Zootecnia. Volumen III* (s. n., pp. 443–467). Madrid.

Davey, J. W., Hohenlohe, P. A., Etter, P. D., Boone, J. Q., Catchen, J. M., & Blaxter, M. L. (2011). Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetics*, 12(7), 499–510. <https://doi.org/10.1038/nrg3012>

de Rezende, M. P. G., Malhado, C. H. M., Biffani, S., Souza Carneiro, P. L., & Bozzi, R. (2020). Genetic diversity derived from pedigree information and estimation of genetic parameters for reproductive traits of Limousine and Charolais cattle raised in Italy. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1), 762–771. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1778547>

- Decker, J. E., McKay, S. D., Rolf, M. M., Kim, J. W., Molina Alcalá, A., Sonstegard, T. S., ... Taylor, J. F. (2014). Worldwide Patterns of Ancestry, Divergence, and Admixture in Domesticated Cattle. *PLoS Genetics*, *10*(3), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004254>
- Deepti Joshi, Harris, N. B., Waters, R., Thacker, T., Mathema, B., Krieswirth, B., & Sreevatsana, S. (2012). Single nucleotide polymorphisms in the *Mycobacterium bovis* genome resolve phylogenetic relationships. *Journal of Clinical Microbiology*, *50*(12), 3853–3861. <https://doi.org/10.1128/JCM.01499-12>
- Elsik, C. G., Tellam, R. L., & Worley, K. C. (2009). The Genome Sequence of Taurine Cattle: A Window to Ruminant Biology and Evolution. *Science*, *324*(April), 522–528.
- Escribano-Tejedor, L. (1951). El problema ganadero en Galicia. En *II Congreso Veterinario de Zootecnia. Volumen VI* (s. n., pp. 36–63). Madrid.
- Eusebi, P. G., Gardyn, O. C., Boxberger, S. D., & Ferreras, J. C. (2018). Genetic diversity analysis of the Mexican Lidia bovine breed population and its relation with the Spanish population by using a subset of SNPs under low gametic disequilibrium. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarías*, *9*(1), 121–134. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v9i1.4393>
- Fernández, M. E., Goszcynski, D. E., Lirón, J. P., Villegas-Castagnasso, E., Carino, M. H., Ripoli, M., ... Giovambattista, G. (2013). Comparison of the effectiveness of microsatellites and SNP panels for genetic identification, traceability and assessment of parentage in an inbred Angus herd. *Genetics and Molecular Biology*, *36*, 185–191.
- Gamarra, D., Taniguchi, M., Aldai, N., Arakawa, A., Lopez-Oceja, A., & de Pancorbo, M. M. (2020). Genetic characterization of the local pirenaica cattle for parentage and traceability purposes. *Animals*, *10*(9), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ani10091584>
- García-Ruiz, A., Cole, J. B., VanRaden, P. M., Wiggans, G. R., Ruiz-López, F. J., & Van Tassell, C. P. (2016). Changes in genetic selection differentials and generation intervals in US Holstein dairy cattle as a result of genomic selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *113*(28), E3995–E4004. <https://doi.org/10.1073/pnas.1519061113>
- Gautier, M., Laloë, D., & Moazami-Goudarzi, K. (2010). Insights into the genetic history of French cattle from dense SNP data on 47 worldwide breeds. *PLoS ONE*, *5*(9), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013038>
- Goodman, D. (2004). Rural Europe Redux? Reflections on alternative agro-food networks and paradigm change. *Sociologia Ruralis*, *44*(1), 3–16. <https://doi.org/10.1111/j.1467->

- Gutiérrez, J. P., Altarriba, J., Díaz, C., Quintanilla, R., Cañón, J., & Piedrafita, J. (2003). Pedigree analysis of eight Spanish beef cattle breeds. *Genet Set Evol*, 35, 43–63. <https://doi.org/10.1051/gse:2002035>
- Heaton, M. P., Keen, J. E., Clawson, M. L., Harhay, G. P., Bauer, N., Shultz, C., ... Laegreid, W. W. (2005). Use of bovine single nucleotide polymorphism markers to verify sample tracking in beef processing. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(8), 1311–1314. <https://doi.org/10.2460/javma.2005.226.1311>
- Ilbery, B., & Maye, D. (2005). Food supply chains and sustainability: Evidence from specialist food producers in the Scottish/English borders. *Land Use Policy*, 22(4), 331–344. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2004.06.002>
- Jombart, T. (2008). adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24, 1403–1405. <https://doi.org/doi:10.1093/bioinformatics/btn129>
- Jombart, T., & Ahmed, I. (2011). adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 27(21), 3070–3071. <https://doi.org/doi:10.1093/bioinformatics/btr521>
- Jordana, J., Alexandrino, P., Beja-Pereira, A., Bessa, I., Cañon, J., Carretero, Y., ... Ferrand, N. (2003). Genetic structure of eighteen local south European beef cattle breeds by comparative F-statistics analysis. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 120(2), 73–87. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0388.2003.00384.x>
- Junta Consultiva Agronómica. Dirección General de agricultura industria y comercio. (1892). *La ganadería en España. Avance sobre la riqueza pecuaria en 1891. Tomo II* (Tipografía). Madrid.
- Junta Consultiva Agronómica. (1892). *La ganadería en España. Avance sobre la riqueza pecuaria en 1891 por la Junta Consultiva Agronómica conforme a las memorias reglamentarias que en el citado año han redactado los ingenieros del servicio agronómico*.
- Lenstra, J. A. (2003). DNA methods for identifying plant and animal species in food. En *Food Authenticity and Traceability* (pp. 34–53). Cambridge UK: Woodhead Publishing Ltd.
- Liu, S., Palti, Y., Martin, K. E., Parsons, J. E., & Rexroad, C. E. (2017). Assessment of genetic differentiation and genetic assignment of commercial rainbow trout strains using a SNP panel. *Aquaculture*, 468, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.004>
- MAGRAMA (Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente). (2012). *Reglamento específico de libro genealógico de la raza bovina Rubia Gallega*.

- Makina, S. O., Muchadeyi, F. C., van Marle-Köster, E., MacNeil, M. D., & Maiwashe, A. (2014). Genetic diversity and population structure among six cattle breeds in South Africa using a whole genome SNP panel. *Frontiers in Genetics*, 5(SEP), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00333>
- MAPA (Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación). (2021). Buscador de Datos Censales (ARCA). Recuperado o 21 de xuño do 2022, de [https://servicio.mapa.gob.es/arca/flujos.html?\\_flowId=buscadorDatosCensalesRaza-flow](https://servicio.mapa.gob.es/arca/flujos.html?_flowId=buscadorDatosCensalesRaza-flow)
- Marsden, T., Banks, J., & Bristow, G. (2002). The social management of rural nature: Understanding agrarian-based rural development. *Environment and Planning A*, 34(5), 809–825. <https://doi.org/10.1068/a3427>
- Meuwissen, T., Hayes, B., & Goddard, M. (2016). Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding. *Animal Frontiers*, 6(1), 6–14. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0002>
- Moazami-Goudarzi, K., Laloë, D., Furet, J. P., & Grosclaude, F. (1997). Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics*, 28(5), 338–345. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1997.00176.x>
- Mouresan, E.-F., Altarriba, J., Moreno, C., Munilla, S., González-Rodríguez, A., & Varona, L. (2016). Performance of genomic selection under a single-step approach in autochthonous Spanish beef cattle populations. *Animal Breeding and Genetics*, (December 2016), 1–11. <https://doi.org/10.1111/jbg.12253>
- Murdoch, J. (2000). Networks - A new paradigm of rural development? *Journal of Rural Studies*, 16(4), 407–419. [https://doi.org/10.1016/S0743-0167\(00\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0743-0167(00)00022-X)
- Negrini, R., Nicoloso, L., Crepaldi, P., Milanesi, E., Marino, R., Perini, D., ... Ajmone Marsan, P. (2008). Traceability of four European Protected Geographic Indication (PGI) beef products using Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) and Bayesian statistics. *Meat Science*, 80(4), 1212–1217. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.021>
- Nielsen, E. E., Bach, L. A., & Kotlicki, P. (2006). HYBRIDLAB (version 1.0): A program for generating simulated hybrids from population samples. *Molecular Ecology Notes*, 6(4), 971–973. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01433.x>
- Orozco-Piñán, F. (2009). *Guía de campo de las razas autóctonas españolas* (Ministerio).
- Prado, F. D., Vera, M., Hermida, M., Blanco, A., Bouza, C., Maes, G. E., ... Martínez, P. (2018). Tracing the genetic impact of farmed turbot *Scophthalmus maximus* on wild populations. *Aquaculture Environment Interactions*, 10, 447–463. <https://doi.org/10.3354/AEI00282>

- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics Society of America*, 155, 945–959.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M., Bender, D., ... Sham, P. C. (2007). PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *American Journal of Human Genetics*, 81.
- R Core Team. (2021). *R: A language and environment for statistical computing*. Recuperado de <https://www.r-project.org/>
- Raymond, M., & Rousset, F. (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity*, 86, 248–249.
- Rey-Alonso, J. (1947). Necesidad de conservar, fomentar y mejorar la raza autóctona gallega. En *I Congreso Veterinario de Zootecnia. Volumen II* (s. n., pp. 38–69). Madrid.
- Robertson, A., & Rendel, J. M. (1950). *THE USE OF PROGENY TESTING WITH ARTIFICIAL INSEMINATION IN DAIRY CATTLE*. 21–31.
- Rof-Codina, J. (1916). *La Raza bocina gallega* (s.n., Ed.). Madrid.
- Rof Codina, J. (1907). Zootecnia Regional. *Prácticas Modernas e Industrias Rurales*, 5(118), 340–342.
- Rousset, F. (2008). Genepop'007: a complete reimplementación of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resources*, 8, 103–106.
- Salinas-Fiel, L. (1951). *Contribución al estudio de las razas vacunas nacionales: Estudio biométrico. La producción de leche y grasa en la raza vacuna gallega rubia, mejorada*. (s. n.). Lugo.
- Salvado-Cabello, A. (1951). Las importaciones de ganado holandés realizadas en los últimos años en la provincia de Santander y su influencia en la ganadería vacuna de la mismo. En *II Congreso Veterinario de Zootecnia. Volumen VI* (s. n., pp. 57–96). Madrid.
- Sasazaki, S., Itoh, K., Arimitsu, S., Imada, T., Takasuga, A., Nagaishi, H., ... Tsuji, S. (2004). Development of breed identification markers derived from AFLP in beef cattle. *Meat Science*, 67(2), 275–280. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2003.10.016>
- Sasazaki, S., Mutoh, H., Tsurifune, K., & Mannen, H. (2007). Development of DNA markers for discrimination between domestic and imported beef. *Meat Science*, 77(2), 161–166. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.02.024>
- Schaeffer, L. R. (2006). Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *Journal of*

*Animal Breeding and Genetics*, 123(4), 218–223. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2006.00595.x>

Sempéré, G., Moazami-Goudarzi, K., Eggen, A., Laloe, D., Gautier, M., & Flori, L. (2015). WIDDE: a Web-Interfaced next generation Database for genetic Diversity Exploration, with a first application in cattle. *BMC Genomics*, 16.

Szűcs, M., Szabó, F., Bán, B., Józsa, C., Rózsa, L., Zsolnai, A., & Anton, I. (2019). Assessment of genetic diversity and phylogenetic relationship of Limousin herds in Hungary using microsatellite markers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32(2), 176–182. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0164>

Tellam, R. L., Lemay, D. G., Van Tassell, C. P., Lewin, H. A., Worley, K. C., & Elsik, C. G. (2009). Unlocking the bovine genome. *BMC Genomics*, 10, 193. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-193>

Van Eenennaam, A. L., Weigel, K. A., Young, A. E., Cleveland, M. A., & Dekkers, J. C. M. (2014). Applied animal genomics: Results from the field. *Annual Review of Animal Biosciences*, 2(November 2013), 105–139. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022513-114119>

Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M., & Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet Set Evol*, 34, 275–305. <https://doi.org/10.1051/gse>

Werner, C. R., Gaynor, R. C., Gorjanc, G., Hickey, J. M., Kox, T., Abbadi, A., ... Stahl, A. (2020). How Population Structure Impacts Genomic Selection Accuracy in Cross-Validation: Implications for Practical Breeding. *Frontiers in Plant Science*, 11(December), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.592977>

Widi, T. S. M., Udo, H., Oldenbroek, K., Budisatria, I. G. S., Baliarti, E., & der Zijpp, A. van. (2021). Designing genetic impact assessment for crossbreeding with exotic beef breeds in mixed farming systems. *Outlook on Agriculture*, 50(1), 34–45. <https://doi.org/10.1177/0030727020915206>

Wilkinson, S., Wiener, P., Archibald, A. L., Law, A., Schnabel, R. D., McKay, S. D., ... Ogden, R. (2011). Evaluation of approaches for identifying population informative markers from high density SNP Chips. *BMC Genetics*, 12(45), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-12-45>

Windhausen, V. S., Atlin, G. N., Hickey, J. M., Crossa, J., Jannink, J. L., Sorrells, M. E., ... Melchinger, A. E. (2012). Effectiveness of genomic prediction of maize hybrid performance

in different breeding populations and environments. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 2(11), 1427–1436. <https://doi.org/10.1534/g3.112.003699>

Xenética Fontao. (2022). Aplicación del diagnóstico genético preimplantacional (PGD) de embriones en los programas de mejora y conservación genética de las razas vacunas de galicia. Recuperado o 20 de xuño do 2022, de <http://www.xeneticafontao.com/esp/proyecto.php?id=5>

Zhao, H., Fuller, A., Thongda, W., Mohammed, H., Abernathy, J., Beck, B., & Peatman, E. (2019). SNP panel development for genetic management of wild and domesticated white bass (*Morone chrysops*). *Animal Genetics*, 50(1), 92–96. <https://doi.org/10.1111/age.12747>