

ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA INTRARRACIAL EN LA RAÇA EQUINA CABALLO PIRENAICO CATALÁN

ANALYSIS OF THE GENETIC VARIABILITY WITHIN BREED OF THE CATALAN PYRENEAN HORSE

Infante, J., A. Ferrando, P.M. Parés y J. Jordana

Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193-Bellaterra, Barcelona, Spain.

TÍTULO CORTO: Caracterización genética del Caballo Pirenaico Catalán

RESUMEN

El Caballo Pirenaico Catalán es una agrupación racial ubicada en siete comarcas del Pirineo y pre-Pirineo catalán. Es una población de orientación principalmente cárnica, que se fue formando a principio del s.XX, a través de los cruces de diferentes razas pesadas europeas con el antiguo Caballo Catalán, actualmente extinto. En abril de 2008, se publicó el Libro Genealógico y se aprobó su estándar racial. Se analizó la diversidad genética de esta agrupación con 16 marcadores microsatélites, a partir de muestras de pelos de 135 animales procedentes de las siete comarcas. Se detectaron un total de 125 alelos (7,82 alelos por locus). La diversidad genética para el conjunto de la raza y dentro de cada comarca fue relativamente elevada ($H_E \geq 0,70$). Se detectó un ligero déficit de heterocigotos para el conjunto de la población ($F_{IS} = 0,040$; $P < 0,01$), sensiblemente más elevado en una de las comarcas (Pallars Sobirà, $F_{IS} = 0,124$; $P < 0,001$). Apenas se presentó subestructuración poblacional, con valores F_{ST} muy bajos. Estos resultados sugieren que en conjunto la población tiene una variabilidad genética elevada, no está apenas estructurada a nivel genético y, en su conjunto, presenta una baja consanguinidad.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: microsatélites, conservación.

SUMMARY

The Catalan Pyrenean Horse is a racial grouping located in seven regions of the Catalan Pyrenees and pre-Pyrenees areas. This population is mainly raised for meat production, and was created in the beginning of the XX century by crossing different breeds with the now extinct Catalan Horse. In April 2008, the Herd Book was published and the racial standard was approved. The genetic diversity of this grouping was analyzed by using 16 microsatellite markers. Hair samples of 135 individuals from the seven regions were obtained. A total of 125 alleles were detected (7.82 alleles per locus). The genetic diversity among the whole population and within regions was relatively high ($H_E \geq 0.70$). A slight deficit of heterozygotes was detected among the whole population ($F_{IS} = 0.040$; $P < 0.01$), but fairly higher in one region (Pallars Sobirà, $F_{IS} = 0.124$; $P < 0.001$). Almost no substructure was detected, with low F_{ST} values. These results suggest that this population, as a whole, still conserves relatively high levels of genetic variability, lack of genetic structure, and shows low consanguinity.

ADDITIONAL KEYWORDS: microsatellites, conservation.

INTRODUCCIÓN

El Caballo Pirenaico Catalán es una agrupación racial equina destinada básicamente a la producción cárnica, y de forma secundaria a actividades turísticas y lúdicas. Su población se ubica en siete comarcas del Pirineo y pre-Pirineo catalán. Esta agrupación presenta una gran diversidad morfológica debido a su origen racial multiétnico, siendo el resultado de cruces entre el antiguo Caballo Catalán –raza eumétrica extinguida a mediados del siglo XX– y una gran variedad de razas pesadas europeas, en su mayoría francesas y belgas, principalmente Bretón,

Comtois y Ardanais (Francesch *et al.*, 2002; Parés *et al.*, 2005, 2006). La población cuenta con un censo aproximado de 4500 animales (4000 yeguas y 500 sementales).

En el año 2004, se iniciaron las actividades para instaurar un Programa de Conservación y Mejora. El 24 de abril de 2008, se publicó el Libro Genealógico y se aprobó su estándar racial (DOGC Núm. 5122, de 30 de abril de 2008) y se sustituyó de forma oficial el nombre que esta población había mantenido provisionalmente: Agrupación Hiperométrica Pirenaica. La agrupación aspira a ser reconocida en breve como raza a nivel estatal. En este estudio, se presentan los resultados de la caracterización genética del Caballo Pirenaico Catalán.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron 135 muestras de pelo de animales de las siete comarcas pirenaicas donde se ubica la población de Caballo Pirenaico Catalán: Alta Ribagorça (N=19), Alt Urgell (N=16), Cerdanya (N=25), Pallars Jussà (N=13), Pallars Sobirà (N=20), Ripollès (N=20) y Vall d'Aran (N=22). El ADN genómico de las muestras se obtuvo siguiendo un protocolo basado en la extracción por fenol/cloroformo.

Se analizó el genotipo de los individuos con 17 marcadores de ADN microsatélite utilizando el kit StockMarks® para caballos (Applied Biosystems) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los *loci* amplificados fueron: AHT4, AHT5, ASB2, ASB17, ASB23, CA425, HMS1, HMS2, HMS3, HMS6, HMS7, HTG4, HTG6, HTG7, HTG10, LEX3 y VHL20. El *locus* LEX3, situado en el cromosoma X, fue excluido de los análisis. Los productos amplificados por PCR fueron analizados en un secuenciador automático ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems) incluyendo un marcador interno del tamaño de los fragmentos.

Los análisis de la diversidad genética, estructuras poblacionales y análisis factorial de correspondencias (AFC) fueron realizados con los programas Genetix v4.05 (Belkhir *et al.*, 2001) y Fstat v2.9.3.2 (Goudet, 1995). Se obtuvo el dendrograma de relación entre las razas estudiadas con el programa Populations v1.2.28 (Langella, 2002) mediante el algoritmo *neighbour-joining* utilizando la distancia D_A (Nei *et al.*, 1983). La robustez de cada rama fue probada con 1000 reemplazos sobre los *loci*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El valor de heterocigosis esperada para el conjunto de la población, calculado con el estimador no sesgado de Nei (1978), fue $H_E = 0,72 (\pm 0,14)$ y el observado $H_O = 0,69 (\pm 0,15)$. Cada *locus* presentó entre 4 y 15 alelos, con una media de 7,8 alelos por *locus*. El marcador más polimórfico fue ASB17 (15 alelos, $H_E = 0,87$) y el menos polimórfico fue HTG6 (4 alelos, $H_E = 0,25$).

El análisis jerárquico de los F-estadísticos, aplicado sobre las siete comarcas, detectó un déficit global de heterocigotos de $F_{IT} = 0,041$, con un intervalo de confianza de 95% de [0,014–0,069]. La subestructuración poblacional fue mínima $F_{ST} = 0,011$, con un intervalo de confianza de 95% de [0,006–0,016]. En cambio se detectó que la mayor parte del déficit de heterocigotos se produjo dentro de las poblaciones $F_{IS} = 0,031$, con un intervalo de confianza de 95% de [0,004–0,058]. A nivel de subpoblaciones, se detectó un déficit significativo de heterocigotos en las comarcas del Pallars Sobirà ($F_{IS} = 0,124$, $P < 0,001$) y del Ripollès ($F_{IS} = 0,060$, $P < 0,05$) (Tabla I). Sin embargo, después de aplicar la corrección estándar de Bonferroni, para un valor nominal de $P < 0,05$, únicamente Pallars Sobirà continuó presentando déficit significativo, que podría ser debido a una mayor consanguinidad entre individuos. Los valores de F_{ST} entre poblaciones sólo fueron significativos entre la comarca de Cerdanya con Alta Ribagorça y Pallars Jussà, y de esta última con la Vall d'Aran.

Asimismo, el análisis factorial de correspondencias no mostró diferencias destacables entre los animales de las diferentes comarcas (datos no mostrados). Los dos factores que contribuyeron con un mayor porcentaje a la inercia total lo hicieron con valores bajos, de un 3,59% y un 3,16%, respectivamente. Sólo unos pocos individuos, de diferentes comarcas, tendieron a separarse del conjunto de la población. El árbol filogenético no enraizado (Figura 1) construido a partir de la distancia D_A de Nei *et al.* (1983) tendió a agrupar por un lado a las comarca del Alt Urgell con la del Pallars Jussà, y por otro lado, la del Pallars Sobirà con la de la

Alta Ribagorça, aunque con unos valores *bootstrap* significativamente bajos; del 38% y el 32% respectivamente.

El Caballo Pirenaico Catalán presenta elevados valores de diversidad genética y una muy escasa subestructuración poblacional; siendo el déficit de heterocigotos, en el global de la raza, del 4%, pero no atribuible a la consanguinidad; con lo cual nos encontramos ante una población genéticamente muy uniforme. El conocimiento del estado de la diversidad genética de la población, en el momento de la apertura del Libro, permitirá establecer las medidas de gestión más adecuadas para el mantenimiento futuro de la diversidad genética de la raza.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto forma parte de un convenio de colaboración entre el DAR (Generalitat de Catalunya), la Universidad Autónoma de Barcelona y las diferentes Asociaciones de Ganaderos. El estudio también se enmarca en un proyecto más amplio para la evaluación de los recursos genéticos de las razas equinas españolas de producción cárnica (INIA RZ2004-00023, Ministerio de Educación y Ciencia).

BIBLIOGRAFÍA

- Belkhir, K., P. Borsa, L. Chikhi, N. Raufaste and F. Bonhomme. 2001. GENETIX 4.02, Logiciel sous Windows TM pour la Génétique des Populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions: CNRS UMR 5000. Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Francesch, A., J. Jordana, P.M. Parés and X. Such. 2002. Les races domèstiques autòctones de Catalunya (I). Entre Camps i Animals, 36: 4-10.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. Journal of Heredity, 86, 385-386.
- Langella, O. 2002. Population 1.2.28. Logiciel de génétique des populations. Laboratoire Populations, génétique et évolution, CNRS UPR 9034, Gif-sur-Yvette, <http://www.cnrs-gif.fr/pge/>.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89, 583-590.
- Nei, M., F. Tajima and T. Tatenó. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. J. Mol. Evol., 19: 153-170.
- Parés, P.M., A. Francesch, J. Jordana and X. Such. 2005. Catalans de Pèl i Ploma. Races Domèstiques Autòctones de Catalunya. Lynx Edicions, Bellaterra, Barcelona.
- Parés, P.M., A. Francesch, J. Jordana and X. Such. 2006. Races autòctones, la protecció d'un patrimoni col·lectiu. Agro-Cultura, 25: 30-34.
- <http://www.rac.uab.es>

TABLA I. Parámetros de diversidad genética en cada comarca y para el conjunto de la raza (*Genetic Diversity within each region and for the whole population*).

Comarca	N	NA	NMA	F _{IS}	H ₀ (SD)	H _E ¹ (SD)
Alta Ribagorça	19	96	6,00	0,024	0,71 (0,14)	0,73 (0,12)
Alt Urgell	16	97	6,06	-0,004	0,72 (0,20)	0,715(0,16)
Cerdanya	25	103	6,44	0,010	0,70 (0,18)	0,710(0,17)
Pallars Jussà	13	85	5,31	-0,017	0,75 (0,21)	0,74 (0,10)
Pallars Sobirà	20	96	6,00	0,124***	0,61 (0,17)	0,70 (0,12)
Ripollès	20	95	5,94	0,060*	0,66 (0,22)	0,70 (0,20)
Vall d'Aran	22	97	6,06	0,013	0,71 (0,19)	0,715(0,15)
Toda la raza	135	125	7,82	0,041**²	0,69 (0,15)	0,72 (0,14)

¹, estimación no sesgada de Nei (1978); ², F_{IT}; N, número de individuos analizados; NA, número total de alelos; NMA, número medio de alelos por *locus*; SD, desviación estándar.

FIGURA 1. Dendrograma con la distancia D_A de Nei y algoritmo NJ. Los valores de *bootstrap* fueron obtenidos tras 1000 reemplazos sobre los *loci*. En la parte inferior se indica la escala de las distancias genéticas (*Unrooted tree obtained with Nei's D_A distance and NJ algorithm. Bootstrap values were obtained after 1000 bootstraps. The distance scale is also indicated*).

