

# CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL ÚLTIMO REDUCTO CAPRINO AUTÓCTONO DE CATALUNYA: LA CABRA BLANCA DE RASQUERA

## GENETIC CHARACTERIZATION OF THE LAST AUTOCHTHONOUS CAPRINE REDOUBT FROM CATALONIA: THE BLANCA DE RASQUERA GOAT

**J. Jordana, J. Marmi, S. Carné y A. Ferrando**

<sup>1</sup> Unitat de Ciència Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, Barcelona, Spain. E-mail: [Jordi.Jordana@uab.cat](mailto:Jordi.Jordana@uab.cat)

### Resumen

En el marco del Programa de Conservación (convenio de colaboración entre el DAR de la Generalitat de Catalunya y la Facultad de Veterinaria de Barcelona), instaurado a partir del año 2003, se analiza la variabilidad genética intrarracial de la cabra Blanca de Rasquera, subestructurada en 11 rebaños pertenecientes a cinco municipios de las comarcas donde se ubica la raza (Tierras del Ebro) y 3 zonas pastorales. La muestra global analizada fue de 233 individuos para un total de 13 marcadores moleculares de tipo microsatélite. Los resultados obtenidos confirman la gran uniformidad genética de la raza.

**Palabras clave:** Microsatélites, Diversidad genética, Conservación.

### Abstract

The analysis of the intra-racial genetic variability of the White of Rasquera goat breed was carried out within the framework of the Conservation Programme (a collaboration agreement between the DAR of the Government of Catalonia and the Veterinary Faculty of Barcelona), which begun in 2003. The population is located in the Ebro Lands, and substructured into 11 flocks that are situated in five different municipalities, with three grazing zones. Samples from 233 individuals were analysed with 13 microsatellite markers. Results confirm the genetic uniformity of this breed.

**Keywords:** Microsatellites, Genetic variability, Conservation.

### Introducción

La cabra Blanca de Rasquera es una raza de aptitud cárnica de tipo ambiental, autóctona de Catalunya que se localiza en las comarcas conocidas con el nombre genérico de Tierras del Ebro. Sus escasos efectivos (menos de 5.000 ejemplares distribuidos en 11 explotaciones) representan el último reducto de patrimonio genético caprino de Catalunya. Por su morfología y semejanza con la cabra Blanca Celtibérica de Castellón, Guadalajara y Albacete, la incluiríamos en el grupo de los descendientes del tronco de *Capra prisca*. La elevada media de edad de los ganaderos ( $53,2 \pm 9,2$  años), y el escaso relevo generacional garantizado (un 16,7%), evocan un futuro poco esperanzador, situando a esta raza en grave peligro de extinción (Carné, 2005; Carné *et al.*, 2007a). A nivel morfológico se ha evidenciado una cierta variabilidad biométrica, habiéndose confirmado la presencia de 3 subpoblaciones diferenciables, en función de los principales territorios de pastoreo (A, B, y C), (Carné *et al.*, 2007b). Para salvaguardar, mantener y conservar dicha población se inició en el año 2003 un Programa de Conservación, promovido y financiado por el *Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural (DAR) de la Generalitat de Catalunya* en colaboración con la Facultad de Veterinaria de Barcelona (UAB). Adicionalmente, el estudio se enmarca dentro de un proyecto más amplio (INIA RZ2007-00005-C02-01, Ministerio de Educación y Ciencia) sobre caracterización genética de razas caprinas españolas en peligro de extinción. Presentamos aquí los resultados de su caracterización genética, a partir del análisis de 13 marcadores microsatélite sobre un total de 233 individuos, distribuidos por rebaños y zonas pastorales, para comprobar si existe una cierta subestructuración reproductiva en el seno de la misma.

## Materiales y métodos

Se obtuvieron muestras de sangre de 233 animales procedentes de 11 rebaños de cinco municipios del sur de Catalunya. Los individuos se agruparon en tres zonas en función de su proximidad geográfica y zona de pastoreo: Rasquera y Tivenys (zona A, 82 muestras), Tivissa y Vandellós (zona B, 90 muestras), Horta de Sant Joan (Zona C, 61 muestras). El genotipado se realizó mediante 13 marcadores microsatélite (INRA49, MCM218, MCM527, MAF65, MAF218, SRCRSP05, SRCRSP06, SRCRSP08, SRCRSP23, HSC, OARAE119, OARCP34 y OARFCB11). Ocho de ellos de origen ovino, cuatro caprino y uno bovino. El cebador *forward* de cada marcador incluyó un marcaje con un fluorocromo (NED, 6-FAM o HEX). Los productos de PCR se analizaron en un secuenciador automático ABI3730 (Applied Biosystems, CA, USA) utilizando el marcador interno estándar de tamaño ROX 70-500. La lectura de los alelos se llevó a cabo con el programa GENEMAPPER v3.7 (Applied Biosystems). Los análisis estadísticos sobre la estima de la diversidad genética y de la estructura poblacional se realizaron con los programas GENETIX v4.05 (Belkhir *et al.*, 2001), FSTAT (Goudet, 1995) y Molkin (Gutiérrez *et al.*, 2005). Los dendrogramas de relación se obtuvieron mediante el algoritmo *neighbour-joining* a partir de la distancia  $D_A$  (Nei *et al.*, 1983), utilizando el programa POPULATIONS v1.2.28 (Langella, 2002). La robustez de cada rama fue contrastada realizando 1000 reemplazos sobre los *loci*.

## Resultados y discusión

### *Diversidad genética*

Se detectaron un total de 115 alelos en el conjunto de la raza, con una media de 8,85 alelos por *locus*. A pesar de su censo reducido, los valores de heterocigosis esperada fueron elevados ( $H_E = 0,717$ ; de media). Los marcadores HSC y SRCRSP23 resultaron ser los más informativos ( $PIC \geq 0.80$ ), mientras que INRA49 obtuvo el valor más bajo ( $PIC = 0,44$ ). Los animales de la zona A presentaron una riqueza alélica mayor a los de las zonas B y C (Cuadro 1). Se detectó un déficit significativo de heterocigotos en cada zona ( $F_{IS} = 0,061$  a  $0,066$ ) y en el conjunto de la raza ( $F_{IS} = 0,071$ ).

### *Estructura de la población*

El análisis jerárquico mostró que la diferenciación genética entre rebaños fue muy baja, aunque significativa ( $F_{ST} = 0,029$ ;  $P < 0,01$ ). Se detectó déficit significativo de heterocigotos en el conjunto de la población ( $F_{IT} = 0,074$ ;  $P < 0,01$ ) y en el conjunto de los rebaños ( $F_{IS} = 0,046$ ;  $P < 0,01$ ) (datos no mostrados). Sin embargo, únicamente tres *loci* INRA49, MCM527 y MCM218, contribuyeron a dicho déficit para el conjunto de la población, y tan solo los dos primeros a nivel de rebaños. Estos resultados indican que dicho déficit no puede ser atribuido a la consanguinidad. La presencia de alelos nulos o la existencia de un cierto desequilibrio de ligamiento con algún gen sometido a selección podrían ser las causas más plausibles de la ausencia de equilibrio Hardy-Weinberg en estos marcadores. Analizando los resultados por zonas de pastoreo (A, B, y C), se obtuvieron resultados muy similares ( $F_{IS} = 0,064$ ;  $F_{IT} = 0,075$ ;  $F_{ST} = 0,012$ ; los tres con una  $P < 0,01$ ). Pese a las “ligeras” diferencias morfológicas detectadas entre individuos de las diferentes zonas de pastoreo (Carné *et al.*, 2007b), éstas no se reflejaron a nivel molecular. Por un lado, el relativo aislamiento entre rebaños – manifestado por algunos ganaderos- es probablemente demasiado reciente para que se puedan detectar los efectos de la deriva genética o de un cierto aislamiento reproductivo. Por otro lado, es posible que los caracteres morfológicos sometidos a selección (natural o artificial) representen unos pocos genes que segregan de forma independiente a los *loci* analizados. Los elevados valores de diversidad genética y la baja consanguinidad muestran que la presión de selección no ha sido muy intensa.

### *Distancias genéticas entre poblaciones*

La diferenciación entre rebaños fue baja (Cuadro 2). Los valores significativos más elevados de  $F_{ST}$  se dieron entre el rebaño C2 y los rebaños A4 y B1, así como entre A4 y B1. Las diferencias genéticas entre las tres zonas fueron mínimas (datos no

mostrados). En la Figura 1 se presenta el dendrograma de relación obtenido, no superando el 50% de robustez ninguna de las ramas. No obstante, y en general, la mayoría de los rebaños de la zona A y de la zona B tendieron a agruparse entre ellos.

**Agradecimientos.** Este trabajo ha sido financiado por el Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural (DAR) de la Generalitat de Catalunya, y por el proyecto de investigación RZ2007-00005-C02-01 concedido por el Instituto Nacional de Investigaciones Agroalimentarias (INIA). También queremos agradecer a todos los ganaderos de la raza la colaboración, e inestimable ayuda, mostrada en todo momento.

## Referencias

- BELKHIR, K.; BORSA, P.; CHIKHI, L.; RAUFESTE, N.; BONHOMME, F. (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).
- CARNÉ, S. (2005). *La Cabra Blanca de Rasquera: caracterització estructural de les explotacions i estudi morfològic de la raça*. Tesina de Investigación. Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona.
- CARNÉ S.; ROIG, N.; JORDANA, J. (2007). La Cabra Blanca de Rasquera: caracterización estructural de las explotaciones. *Archivos de Zootecnia*, 56 (213): 43-54.
- CARNÉ, S.; ROIG, N.; JORDANA, J. (2007). La Cabra Blanca de Rasquera: caracterización morfométrica y faneróptica. *Archivos de Zootecnia*, 56 (215): 319-330.
- 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/pgel/>.
- GUTIÉRREZ, J.P.; ROYO, L.J.; ÁLVAREZ, I.; GOYACHE, F. (2005). MolKin v2.0: a computer program for genetic analysis of populations using molecular coancestry information. *Journal of Heredity*, 96: 718-721.
- GOUDET, J. (2001). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from Goudet (1995)
- NEI, M.; TAJIMA, F.; TATENO, T. (1983). Accuracy of estimated phylogenetics trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution*, 19: 153-170.
- WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38:1358-1370.

**Cuadro 1.** Valores de heterocigosis esperada ( $H_E$ ) y observada ( $H_O$ ); número medio de alelos por locus; riqueza alélica (corregida para un tamaño muestral  $N=58$ ); y estimación del déficit de heterocigotos ( $F_{IS}$ ) para cada rebaño, zona y conjunto de la raza.

Rebaño	N	$H_E (1) \pm SD$	$H_O \pm SD$	Nº medio alelos/locus	Riqueza alélica (N=58)	$F_{IS}$
A1	16	0,709 $\pm$ 0,114	0,626 $\pm$ 0,207	6,08		0,121
A2	18	0,705 $\pm$ 0,097	0,683 $\pm$ 0,167	6,38		0,031
A3	18	0,708 $\pm$ 0,160	0,683 $\pm$ 0,253	5,77		0,037
A4	30	0,701 $\pm$ 0,167	0,691 $\pm$ 0,206	5,92		0,014
<b>Zona A</b>	<b>82</b>	<b>0,719 <math>\pm</math> 0,122</b>	<b>0,675 <math>\pm</math> 0,183</b>	<b>7,85</b>	<b>7,56</b>	<b>0,061*</b>
B1	23	0,687 $\pm$ 0,143	0,667 $\pm$ 0,161	4,77		0,031
B2	10	0,725 $\pm$ 0,098	0,698 $\pm$ 0,190	4,92		0,039
B3	17	0,723 $\pm$ 0,092	0,703 $\pm$ 0,206	5,62		0,029
B4	16	0,702 $\pm$ 0,109	0,635 $\pm$ 0,182	5,31		0,098
B5	24	0,722 $\pm$ 0,089	0,686 $\pm$ 0,156	5,77		0,050
<b>Zona B</b>	<b>90</b>	<b>0,725 <math>\pm</math> 0,096</b>	<b>0,677 <math>\pm</math> 0,149</b>	<b>7,31</b>	<b>6,87</b>	<b>0,066*</b>
C1	40	0,692 $\pm$ 0,135	0,644 $\pm$ 0,162	6,85		0,070
C2	21	0,633 $\pm$ 0,155	0,629 $\pm$ 0,182	5,15		0,006
<b>Zona C</b>	<b>61</b>	<b>0,683 <math>\pm</math> 0,120</b>	<b>0,639 <math>\pm</math> 0,154</b>	<b>6,92</b>	<b>6,89</b>	<b>0,065*</b>
<b>Total</b>	<b>233</b>	<b>0,717 <math>\pm</math> 0,107</b>	<b>0,666 <math>\pm</math> 0,158</b>	<b>8,85</b>	<b>7,43</b>	<b>0,071*</b>

(1) estimación no sesgada (Nei, 1978)

(\*) según el valor nominal de  $P < 0,05$ , corregido por Bonferroni.

**Cuadro 2.** Test de diferenciación entre subpoblaciones. La diagonal superior corresponde al estimador  $\theta$  del valor de  $F_{st}$  según Weir y Cockerham (1984). La diagonal inferior indica la significación del valor de la diagonal superior.

	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4	B5	C1	C2
A1	-	0,025	0,021	0,032	0,044	0,010	0,019	0,010	0,016	0,023	0,036
A2	NS	-	0,024	0,036	0,046	0,012	0,005	0,020	0,020	0,017	0,018
A3	NS	NS	-	0,014	0,040	0,035	0,014	0,020	0,033	0,022	0,054
A4	***	***	***	-	<b>0,057</b>	0,044	0,020	0,028	0,039	0,025	<b>0,068</b>
B1	***	***	***	***	-	0,054	0,039	0,054	0,044	0,038	<b>0,068</b>
B2	NS	NS	*	***	***	-	0,000	0,000	0,000	0,023	0,031
B3	NS	NS	NS	***	***	NS	-	0,007	0,006	0,017	0,029
B4	NS	NS	NS	***	***	NS	NS	-	0,006	0,011	0,015
B5	**	*	***	***	***	NS	NS	NS	-	0,029	0,033
C1	*	NS	***	***	***	NS	NS	NS	***	-	0,034
C2	*	NS	***	***	***	**	*	NS	***	***	-

**Figura 1.** Árbol de distancias y relaciones entre las diferentes subpoblaciones de cabra Blanca de Rasquera, obtenido con la distancia  $D_A$  de Nei mediante el algoritmo *neighbour-joining*. La robustez ha sido probada para 1000 reemplazos sobre los *loci*. La escala representa la distancia genética.

