

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD Y RELACIONES GENÉTICAS ENTRE CINCO RAZAS OVINAS DEL PIRINEO ORIENTAL

Ferrando, A., Parés, P.M., Marmi, J., Avellanet, R., Jordana, J.
Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. Edifici V; 08193-Bellaterra (Barcelona). Jordi.Jordana@uab.es

INTRODUCCIÓN

Las razas Xisqueta, Aranesa, Ripollesa, Tarasconesa y Roja del Rosellón, son razas locales ovinas distribuidas en comarcas Pirenaicas y pre-Pirenaicas del norte de España, las tres primeras, y sur de Francia, las dos últimas. La raza Aranesa está estrechamente emparentada con la Tarasconesa y probablemente comparten su origen más ancestral con la raza Merina. La raza Ripollesa se originó a partir de cruces entre antiguas poblaciones autóctonas de las comarcas nororientales de Catalunya con ovejas trashumantes de la raza Merina. La raza Xisqueta, en cambio, pertenece al Tronco Ibérico que deriva de ovinos procedentes de Asia Central. La Roja del Rosellón, parece tener sus orígenes más ancestrales en las poblaciones procedentes del Norte de África. El objetivo de este trabajo es explorar la variabilidad genética de estas cinco razas ubicadas en los Pirineos Orientales, y determinar el grado de diferenciación genética existente entre ellas.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el estudio se han incluido animales pertenecientes a 5 razas ovinas de los Pirineos Orientales: Xisqueta (N=98), Aranesa (N=90), Ripollesa (N=55), Tarasconesa (N=44) y Roja del Rosellón (N=24). El ADN fue extraído de muestras de sangre siguiendo un protocolo estándar con fenol-cloroformo (Ausubel *et al.*, 1987). Las poblaciones fueron analizadas para 12 marcadores de ADN de tipo microsatélite: McM42, INRA49, McM527, TGLA53, MAF65, HSC, OarCP20, OarCP34, OarCP49, OarFCB11, McM218 y MAF214. Los productos de PCR fueron analizados en un secuenciador ABI3730 (Applied Biosystems) usando ROX70-500 como marcador interno del tamaño de los fragmentos. Los análisis estadísticos sobre la estima de la diversidad genética y de la estructura poblacional han sido realizados con los programas GENETIX v4.05 (Belkhir *et al.*, 2001) y FSTAT (Goudet, 1995). Se han obtenido los valores de heterocigosidad esperada (H_E) con el estimador no sesgado de Nei (1978) y de heterocigosidad observada (H_o), el porcentaje de loci polimórficos, las frecuencias alélicas y la riqueza alélica corrigiendo el tamaño muestral a N=23. El valor de F_{ST} y la estima del flujo génico entre poblaciones (siguiendo la fórmula $Nm = (1-F_{ST})/4*F_{ST}$) han sido calculados con el estimador θ , de Weir y Cockerham (1984), de la F_{ST} de Wright. El déficit de heterocigotos en cada locus para cada población ha sido calculado estimando el valor del F -estadístico análogo a la F_{IS} de Wright. Finalmente, se ha obtenido un dendrograma de relación entre razas 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 probada realizando 1000 reemplazos sobre los loci.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los 12 loci amplificaron y fueron polimórficos en las cinco razas ovinas. El número total de alelos fue de 155 para el conjunto de las razas. El número total de alelos por locus varió entre 10 (INRA49 y OarCP34) y 25 (OarCP49). Dentro de cada raza, la Xisqueta presentó el mayor número de alelos, mientras que el valor menor fue para la Roja del Rosellón, probablemente debido a la diferencia de muestras analizadas en cada raza. Se detectó un total de 22 alelos propios, 10 de ellos en la raza Xisqueta. La riqueza alélica ajustada a un mismo tamaño muestral para todas las razas (N=23) siguió presentando un valor más elevado en la raza Xisqueta. Las otras cuatro razas presentaron un valor similar entre ellas. La heterocigosidad observada varió entre 0.699 (Aranesa) y 0.750 (Roja del Rosellón). Las razas Xisqueta y Aranesa mostraron un déficit significativo de heterocigotos ($p < 0.05$) del 5.2 y el 6.1%, respectivamente, para el conjunto de los loci. En cambio a nivel de locus, sólo

MAF214 mostró un déficit significativo de heterocigotos en la raza Xisqueta ($p < 0.05$). La Tabla 1 muestra los principales valores de diversidad genética.

En la Tabla 2 se muestran los valores de F_{ST} entre las diferentes razas así como el número de migrantes entre poblaciones por generación. Ambos indican un flujo génico relativamente bajo entre la Roja del Rosellón y el resto de razas ovinas del Pirineo Oriental. La Figura 1 presenta el árbol filogenético no enraizado de las razas realizado con la distancia D_A de Nei. En general, las diferencias genéticas debido a la estructura racial son muy bajas, entre el 1% y el 4.8%. De las cinco razas, la Roja del Rosellón es la que presenta una mayor distancia genética respecto a las demás. Como era esperable, las razas Aranesa y Tarasconesa, que comparten el mismo origen, se agrupan juntas.

Como conclusión, las razas ovinas estudiadas del Pirineo Oriental muestran una elevada variabilidad genética a nivel de marcadores microsatélite y una diferenciación genética poco pronunciada. De todas ellas, la Roja del Rosellón es genéticamente la más distante.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el *Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya*. También agradecemos a los ganaderos, y a las diferentes asociaciones de las razas, su ayuda y colaboración durante el período de muestreo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, G. G., Smith, J. A., Struhl, K. 1987. *Current Protocols in Molecular Biology*. Green Publishing Associates and Wiley-Interscience, New York. • Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, 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). • 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., Tajima, F., Tateno, T. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution*, 19, 153-170.

Tabla 1. Valores de diversidad genética de las cinco razas ovinas. Abreviaciones: H_E , heterocigosidad esperada con el estimador no sesgado de Nei (1978); H_O , heterocigosidad observada; SD, desviación estándar; n.a., número total de alelos; a.p., alelos propios de cada raza; r.a. riqueza alélica para un tamaño muestral corregido a $N=23$; F_{IS} , estimador del déficit de heterocigotos dentro de las razas.

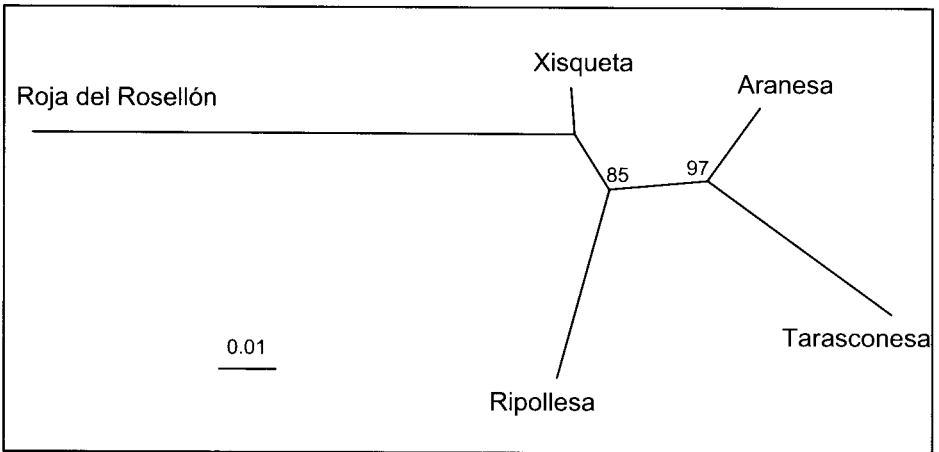
Raza	$H_E \pm SD$	$H_O \pm SD$	n.a.	a.p.	r.a.	F_{IS}
Xisqueta	0.768 \pm 0.106	0.728 \pm 0.130	137	10	8.50	0.052*
Aranesa	0.744 \pm 0.111	0.699 \pm 0.121	117	3	7.62	0.061*
Tarasconesa	0.747 \pm 0.127	0.736 \pm 0.129	102	2	7.63	0.016
Ripollesa	0.758 \pm 0.107	0.744 \pm 0.120	111	5	7.50	0.019
Roja del Rosellón	0.741 \pm 0.094	0.750 \pm 0.146	89	2	7.35	-0.012

*, $p < 0.05$

Tabla 2. En la diagonal superior se presentan los valores de F_{ST} entre poblaciones, según Weir y Cockerham (1984); en la diagonal inferior se detalla el número de migrantes entre poblaciones por generación (Nm).

	Xisqueta	Aranesa	Tarasconesa	Ripollesa	Roja del Rosellón
Xisqueta	---	0.01246	0.01084	0.01005	0.02941
Aranesa	19.82	---	0.01242	0.01888	0.04492
Tarasconesa	22.81	19.87	---	0.01537	0.04795
Ripollesa	24.64	12.99	16.02	---	0.04191
Roja del Rosellón	8.25	5.32	4.96	5.72	---

Figura 1. Árbol filogenético de las cinco razas ovinas realizado mediante el método *neighbour-joining* con la distancia D_A de Nei. La robustez ha sido probada para 1000 reemplazos sobre los loci. La escala representa la distancia genética.



ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD Y RELACIONES GENÉTICAS ENTRE CINCO RAZAS OVINAS DEL PIRINEO ORIENTAL

Ferrando, A., Parés, P.M., Marmi, J., Avellanet, R. y Jordana, J.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. Edifici V; 08193-Bellaterra (Barcelona). Jordi.Jordana@uab.es



INTRODUCCIÓN

Las razas Xisqueta, Aranese, Ripollesa, Tarasconesa y Roja del Rosellón, son razas locales ovinas distribuidas en comarcas Pirenaicas y pre-Pirenaicas del norte de España, las tres primeras, y sur de Francia, las dos últimas. La raza Aranese está estrechamente emparentada con la Tarasconesa y probablemente comparten su origen más ancestral con la raza Merina. La raza Ripollesa se originó a partir de cruces entre antiguas poblaciones autóctonas de las comarcas nororientales de Catalunya con ovejas trashumantes de la raza Merina. La raza Xisqueta, en cambio, pertenece al Tronco Ibérico que deriva de ovinos procedentes de Asia Central. La Roja del Rosellón, parece tener sus orígenes más ancestrales en las poblaciones procedentes del Norte de África. El objetivo de este trabajo es explorar la variabilidad genética de estas cinco razas ubicadas en los Pirineos Orientales, y determinar el grado de diferenciación genética existente entre ellas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras analizadas:

- Xisqueta: N=98
- Aranese: N=90
- Ripollesa: N=55
- Tarasconesa: N=44
- Roja del Rosellón: N=24

Marcadores microsatélites:

- McM42, INRA49, McM527, TGLA53, MAF65, HSC, OarCP20, OarCP34, OarCP49, OarFCB11, McM218 y MAF214

Programas:

- GENETIX v4.05 (Belkhir *et al.*, 2001)
- FSTAT (Goudet, 1995)
- POPULATIONS v1.2.28 (Langella, 2002)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variabilidad genética

Los 12 loci fueron polimórficos en las cinco razas ovinas. El número total de alelos fue de 155 para el conjunto de las razas. El número total de alelos por locus varió entre 10 (INRA49 y OarCP34) y 25 (OarCP49). La Xisqueta presentó el mayor número de alelos, mientras que el valor menor fue para la Roja del Rosellón, probablemente debido a la diferencia de muestras analizadas en cada raza. Se detectó un total de 22 alelos propios, 10 de ellos en la raza Xisqueta. La riqueza alélica ajustada a un mismo tamaño muestral para todas las razas (N=23) siguió presentando un valor más elevado en la raza Xisqueta. Las otras cuatro razas presentaron un valor similar entre ellas. La heterocigosidad observada varió entre 0.699 (Aranese) y 0.750 (Roja del Rosellón). Las razas Xisqueta y Aranese mostraron un déficit significativo de heterocigotos ($p < 0.05$) del 5.2 y el 6.1%, respectivamente, para el conjunto de los loci (Tabla 1). En cambio a nivel de locus, sólo MAF214 mostró un déficit significativo de heterocigotos en la raza Xisqueta ($p < 0.05$).

Estructuración poblacional

Los valores de *FST* obtenidos entre las diferentes razas así como el número de migrantes entre poblaciones por generación indican un flujo génico relativamente bajo entre la Roja del Rosellón y el resto de razas ovinas del Pirineo Oriental (Tabla 2). En general, las diferencias genéticas debido a la estructura racial son muy bajas, entre el 1% y el 4.8%. De las cinco razas, la Roja del Rosellón es la que presenta una mayor distancia genética respecto a las demás. Como era esperable, las razas Aranese y Tarasconesa, que comparten el mismo origen, se agrupan juntas (Figura 1).

Como conclusión, las razas ovinas estudiadas del Pirineo Oriental muestran una elevada variabilidad genética a nivel de marcadores microsatélite y una diferenciación genética poco pronunciada. De todas ellas, la Roja del Rosellón es genéticamente la más distante.

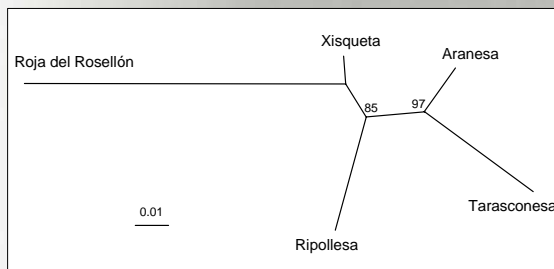
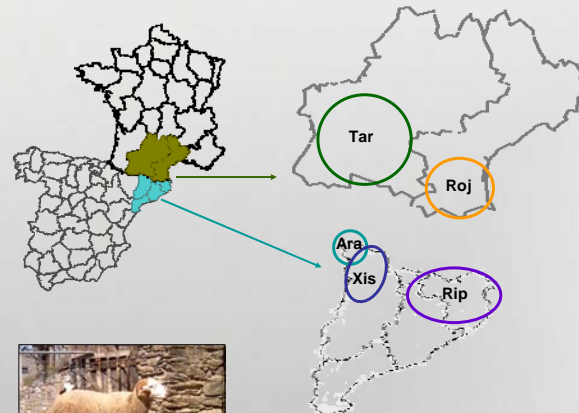


FIGURA 1. Árbol filogenético de las cinco razas ovinas realizado mediante el método neighbour-joining con la distancia D_j de Nei *et al.* (1983). La robustez ha sido probada para 1000 reemplazos sobre los loci. La escala representa la distancia genética.



Aranese



Xisqueta



Tarasconesa



Roja del Rosellón



Ripollesa

	$H_E \pm SD$	$H_O \pm SD$	n.a.	a.p.	r.a.	F_{IS}
Xisqueta	0.768 ± 0.106	0.728 ± 0.130	137	10	8.50	0.052*
Aranese	0.744 ± 0.111	0.699 ± 0.121	117	3	7.62	0.061*
Tarasconesa	0.747 ± 0.127	0.736 ± 0.129	102	2	7.63	0.016
Ripollesa	0.758 ± 0.107	0.744 ± 0.120	111	5	7.50	0.019
Roja del Rosellón	0.741 ± 0.094	0.750 ± 0.146	89	2	7.35	-0.012

TABLA 1. Valores de diversidad genética de las cinco razas ovinas. Abreviaciones: H_E , heterocigosidad esperada con el estimador no sesgado de Nei (1978); H_O , heterocigosidad observada; SD, desviación estándar; n.a., número total de alelos; a.p., alelos propios de cada raza; r.a., riqueza alélica para un tamaño muestral corregido a N=23; F_{IS} , estimador del déficit de heterocigotos dentro de las razas.

	Xisqueta	Aranese	Tarasconesa	Ripollesa	Roja del Rosellón
Xisqueta	---	0.01246	0.01084	0.01005	0.02941
Aranese	19.82	---	0.01242	0.01888	0.04492
Tarasconesa	22.81	19.87	---	0.01537	0.04795
Ripollesa	24.64	12.99	16.02	---	0.04191
Roja del Rosellón	8.25	5.32	4.96	5.72	---

TABLA 2. En la diagonal superior se presentan los valores de *FST* entre poblaciones, según Weir y Cockerham; en la diagonal inferior se detalla el número de migrantes entre poblaciones por generación ($Nm = (1-FST)/4*FST$)

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya. También agradecemos a los ganaderos, y a las diferentes asociaciones de las razas, su ayuda y colaboración durante el periodo de muestreo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., Bonhomme, F. 2001. Laboratoire Génome, Populations, Interactions: CNRS UMR 5000. Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Goudet, J. 1995. Journal of Heredity, 86, 385-386.
- Langella, O. 2002. Laboratoire Populations, Génétique et Évolution, CNRS UPR 9034, Gif-sur-Yvette, <http://www.cnrs-gif.fr/pge/>.
- Nei, M. 1978. Genetics, 89, 583-590.
- Nei, M., Tajima, F., Tateno, T. 1983. Journal of Molecular Evolution, 19, 153-170.
- Weir B. S., Cockerham, C. C. 1984. Evolution, 38, 1358-1370.