

DIVERSIDAD GENÉTICA DE LA RAZA EQUINA MARISMEÑA

GENETIC DIVERSITY OF THE MARISMEÑO EQUINE BREED

Pablo M.^{1*}, Landi V.¹, Nogales S.¹, Martínez A.¹, Delgado J.V.¹, Vega-Pla J.L.²

¹Departamento de Genética, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba (ESPAÑA). *z12pagom@gmail.com

²Laboratorio de Investigación Aplicada, Ministerio de Defensa (ESPAÑA)

Keywords: Biodiversity; Local breeds; Molecular markers.

Palabras clave: Biodiversidad; Razas autóctonas; Marcadores moleculares.

Abstract

Marismeño horse, is a Spanish equine breed threatened with extinction located almost exclusively at the Espacio Natural de Doñana, a protected area (Natural and National Park), at the Southwest of the Iberian Peninsula. 25 microsatellites recommended by the International Society of Animal Genetics (ISAG) were typed to define the genetic profile of the breed (AHT4, AHT5, ASB17, ASB2, ASB23, HMS3, HMS6, HMS7, HTG10, HTG4, LEX3, LEX33, VHL20, TKY287, TKY294, TKY297, TKY301, TKY312, TKY321, TKY333, TKY337, TKY341, TKY343, TKY344, TKY394). The microsatellites were amplified by PCR (Polimerase Chain Reaction). The obtained fragments were separated by electrophoresis in an automatic sequencer ABI377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). The fragment analysis and genotyping was made using the programmes Genescan Analisis 3.1.2 and Genotyper 2.5, using Genescan® 400HD ROX as size standard. Heterozygosity analysis, Fis, multivariate analysis and assignation and genetic structure analysis were performed. All the microsatellites analyzed were informative and polymorphic, with a minimum of 6 alleles for the microsatellites AHT5, HMS6 and HMS7, and a maximum of 12 for the microsatellite ASB2. The Marismeño breed shows a high variability, with an average of 8.24 alleles per locus. The FIS value for the population was 0.007. This means that the population is homogeneous and not significantly deviated from HWE. The genetic structure analysis confirms the analysed individuals group together. The conclusion is that the first results of a great effort done by the Marismeño horse breeders are being collected, to settle the breed characteristics without significant loss of genetic variability.

Resumen

El caballo Marismeño, es una raza equina española que se halla en peligro de extinción y que se localiza casi exclusivamente en el Espacio Natural de Doñana, entorno protegido (Parque Natural y Parque Nacional), situado entre las provincias de Sevilla, Huelva y Cádiz, al Suroeste de la Península Ibérica. Para realizar una caracterización genética de la raza y definir su perfil genético se analizaron 25 marcadores microsatélites recomendados por la International Society of Animal Genetics (ISAG): AHT4, AHT5, ASB17, ASB2, ASB23, HMS3, HMS6, HMS7, HTG10, HTG4, LEX3, LEX33, VHL20, TKY287, TKY294, TKY297, TKY301, TKY312, TKY321, TKY333, TKY337, TKY341, TKY343, TKY344, TKY394. Se amplificaron los microsatélites mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los fragmentos obtenidos en la PCR se separaron mediante una electroforesis en un secuenciador automático ABI377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). El análisis de los fragmentos y la tipificación alélica se realizó mediante los programas informáticos Genescan Analisis 3.1.2 y Genotyper 2.5 respectivamente utilizando Genescan® 400HD ROX Size Standard como estándar de tamaños. Se realizaron análisis de heterocigosidad, Fis, análisis multivariable y test de estructura genética y asignación. Todos los microsatélites analizados resultaron muy informativos y polimórficos mostrando entre un mínimo de 6 alelos, para los microsatélites AHT5, HMS6 y HMS7, y un máximo de 12 en el microsatélite ASB2. La raza equina Marismeña muestra una alta variabilidad, con un número medio de 8,24 alelos por locus. El valor medio de FIS de la población es de 0,007, lo que indica que la población Marismeña es homogénea y además no muestra una desviación significativa del equilibrio Hardy-Weinberg. El análisis de la estructura genética confirma que los individuos analizados se agrupan juntos. La conclusión es que se están obteniendo los primeros frutos derivados de un gran esfuerzo de los criadores de

Caballo Marismeño para fijar las características de su raza sin que haya una pérdida significativa de variabilidad genética.

Introducción

En la Península Ibérica existe una gran proporción de razas que se encuentran en peligro de extinción cuyas perspectivas de futuro dependen del establecimiento de programas de conservación que deben estar apoyados, entre otros, en estudios de diversidad genética. La raza equina Marismeña se encuentra ubicada dentro de las razas autóctonas en peligro de extinción, según el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España (Anexo I del Real Decreto 2129/2008, de 26 de diciembre). Su censo global se sitúa alrededor de las 1500 cabezas que, casi en su totalidad, se encuentran integradas en el Libro Genealógico gestionado por la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Marismeño. En el caso del caballo, es difícil desligar la memoria de los movimientos migratorios humanos asociados a los caballos como medio de transporte. En este sentido, la raza Marismeña que está en peligro de extinción, representa al caballo que se encuentra en el Entorno Natural de Doñana con un enraizamiento profundo en las costumbres y tradiciones de la zona. Este trabajo estudia la estructura genética de la raza equina Marismeña, mediante la tipificación de 25 secuencias microsatélites del ADN. Se han realizado análisis estadísticos de los datos con distintas herramientas para valorar la diversidad intra-racial y la estructura genética de la raza.

Material y métodos

Para realizar una caracterización genética de la raza y definir su perfil genético, se han obtenido 100 muestras de animales de Caballo Marismeño obtenidas aleatoriamente. Se analizaron 25 marcadores microsatélites recomendados por la International Society of Animal Genetics (ISAG): AHT4, AHT5, ASB17, ASB2, ASB23, HMS3, HMS6, HMS7, HTG10, HTG4, LEX3, LEX33, VHL20, TKY287, TKY294, TKY297, TKY301, TKY312, TKY321, TKY333, TKY337, TKY341, TKY343, TKY344, TKY394. Se amplificaron los microsatélites mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los fragmentos obtenidos en la PCR se separaron mediante una electroforesis en un secuenciador automático ABI377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). El análisis de los fragmentos y la tipificación alélica se realizó mediante los programas informáticos Genescan Analysis 3.1.2 y Genotyper 2.5 respectivamente utilizando Genescan® 400HD ROX Size Standard como estándar de tamaños. Se realizaron análisis de heterocigosidad, Fis, análisis multivariable para lo que se ha utilizado el programa GENEPOP 1.2 (Raymond M., Rousset F., 1995) y test de estructura genética y asignación con el programa Structure v.2.0 (Pritchard et al., 2000).

Resultados y discusión

Todos los microsatélites analizados resultaron muy informativos y polimórficos mostrando entre un mínimo de 6 alelos, para los microsatélites AHT5, HMS6 y HMS7, y un máximo de 12 en el microsatélite ASB2. La raza equina Marismeña muestra una alta variabilidad, con un número medio de 8,24 alelos por locus. El valor medio de FIS de la población es de 0,007, lo que indica que la población Marismeña es homogénea y además no muestra una desviación significativa del equilibrio Hardy-Weinberg. Se ha determinado la posible estructura genética de la población Marismeña comparándola con tres razas: Pura Raza Español, Caballo de las Retuertas e Hispano-Árabe, que se explotan en la misma zona y que a priori podría pensarse que han ejercido alguna influencia en el Caballo Marismeño. El análisis de la estructura genética confirma que los individuos analizados se agrupan juntos y se diferencian de las otras razas estudiadas, aunque hay algunos individuos que comparten su genoma con el PRE (Pura Raza Español).

Discusión

Los caballos que constituyen en la actualidad la Raza Marismeña surgen de un esfuerzo muy grande de la asociación para homogeneizar lo que hace pocos años era una población de caballos sin control reproductivo alguno. Los frutos de este esfuerzo se aprecian por un gran avance en la uniformidad genética de la raza y, a la vez, el mantenimiento de su diversidad con un nº alto de alelos y un FIS muy contenido realizado en la última década. En un estudio previo llevado a cabo con una muestra cogida al azar entre caballos pobladores de la Marisma del Guadalquivir y anterior a la declaración oficial de la Raza Marismeña (Vega-Pla 2006), se observa cómo las diferencias entre individuos y la presencia en su genoma de influencias de razas muy diversas pedía

una intervención inmediata en la gestión de esta población de caballos. El cruzamiento con el PRE ha sido una práctica habitual hasta hace unos años y es lógico que forme parte del acervo genético de la Raza Marismeña, sin embargo ésta mantiene también sus características propias derivadas de los antiguos caballos que poblaban la zona y que hoy prácticamente han desaparecido, exceptuando un pequeño grupo de ejemplares que se conservan en la Reserva Biológica de Doñana denominados Caballos de las Retuertas.

Tabla I. Número de muestras analizadas, número de alelos por marcador (NA), riqueza alélica (RA), heterocigosis observada (Ho), heterocigosis esperada (He), contenido de información polimórfica (PIC), coeficiente de consanguinidad (FIS). [*Sample size, number of alleles per marker (NA), allelic richness (RA) observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He), polymorphism information content (PIC), inbreeding coefficient (FIS)*]

Nº de muestras analizadas	NA	RA	He	Ho	PIC	F _{IS}
100	8,24	7,36	0,79	0,74	0,75	0,007

Conclusiones

En un periodo de tiempo de apenas 10 años se ha podido comenzar a fijar las características genéticas de los caballos de Raza Marismeña sin que haya una pérdida significativa de variabilidad genética.

Bibliografía

- Falconer, D.S., 1990, Introduction to quantitative genetics. Compañía Editorial Continental, S.A. México.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945–959.
- Raymond, M., Rousset, F., 1995, GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86(3), 248-249.
- Vega-Pla, J.L., Calderón, J., Rodríguez-Gallardo, P.P., Martínez, A.M., Rico, C., 2006, Saving feral horse populations: does it really matter? A case study of wild horses from Doñana National Park in southern Spain. *Animal Genetics* 37, 571-578.