

# ESTUDIO PRELIMINAR DEL COMPONENTE RACIAL EN EL CABALLO HISPANO-ÁRABE UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES

## PRELIMINARY STUDY OF BREED MEMBERSHIP IN HISPANO-ARABE HORSE USING MICROSATILITES MARKERS

Gómez M.<sup>1\*</sup>, Landi V.<sup>1</sup>, Martínez A.<sup>1</sup>, León J.<sup>1</sup>, Fernández J.<sup>2</sup>, Vega J.L.<sup>3</sup>, Delgado J.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Genética. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. \*mayragomezcarpio@gmail.com

<sup>2</sup>Unión Española de Ganaderos de Pura Raza Hispano – Árabe, Sevilla.

<sup>3</sup>Laboratorio de Investigación Aplicada, Ministerio de Defensa, Córdoba.

**Keywords:** Assignment; Equine; Heterosis; Microsatellites.

**Palabras clave:** Asignación; Equino; Heterosis; Microsatélites.

### Abstract

Current model used in the calculation of genetic parameters and genetic evaluation of the Hispano-Arabe horse breed takes into account several effects, one of which are the blood levels, defined as the genetic proportions of the Arab breed in each individual. We believe that this particularity means that there are some differences in the estimation of genetic parameters and breeding values caused by dominance effects. The use molecular tools to estimate the percentage of blood is pointed out in this study. We used the multilocus genotypes of 22 microsatellites in a sample of 114 HÁ horses using as reference populations 48 PRE and 60 PRÁ as well as out-group 46 PSI. Through a statistical analysis procedure we develop individual test to assign horses HA to PRE and PRA populations. The results show as 48% of the animals to HA breed were assigned to PRE ( $48.60 \pm 0.26$ ), 45% of the animals to breed PRA ( $48.76 \pm 0.27$ ) and 7% to PSI breed.

### Resumen

El caballo Hispano – Árabe (HÁ) es fruto del cruzamiento dirigido de dos razas, el Pura Raza Español (PRE) y Pura Raza Árabe (PRÁ) y por esta particularidad pueden existir diferencias entre individuos en cuanto al porcentaje de sangre española y árabe. La asignación actual del porcentaje de sangre se realiza teniendo en cuenta la genealogía de los individuos, pero pueden existir errores de estimación, principalmente por el desconocimiento del pedigrí completo de los animales en registro auxiliar. Utilizando marcadores moleculares (microsatélites) se plantea utilizar una herramienta estadística para medir de una manera exacta este porcentaje de sangre de los animales y poder utilizar este parámetro como un dato fiable más a tener en cuenta en la evaluación genética de los reproductores de la raza. Para ello se han utilizado los genotipos multilocus de 22 microsatélites sobre una muestra de 114 caballos HÁ, utilizando como poblaciones de referencia 48 PRE y 60 PRÁ además de 46 Pura Sangre Inglés como outgroup. A través de un procedimiento estadístico se realiza un análisis de *Asignación a nivel individual* para asignar los caballos HÁ a las poblaciones PRE y PRÁ. Los resultados encontrados muestran como el 48% de los animales HÁ se asignan a la raza PRE ( $48,60 \pm 0,26$ ) y el 48% de los animales a la raza PRÁ ( $48,76 \pm 0,27$ ).

### Introducción

El caballo Hispano – Árabe (HÁ) es una raza formada en España por la fijación del cruce entre las dos razas integradas en su nombre, en un proceso que se inició probablemente hace más de dos siglos y que se sigue manteniendo hasta nuestros días, por la intención de los ganaderos de contar con una raza de trabajo y deporte adecuada a las necesidades de la época (Delgado *et al.* 2005). El caballo HÁ es fruto del cruzamiento dirigido de dos razas, el Pura Raza Español (PRE) y Pura Raza Árabe (PRÁ), y por esta particularidad pueden existir diferencias entre individuos en cuanto al porcentaje de sangre española y árabe. La asignación actual del porcentaje de sangre se realiza teniendo en cuenta la genealogía de los individuos, pero pueden existir errores de estimación, principalmente por el desconocimiento del pedigrí completo de los animales en registro auxiliar. El objetivo es utilizar marcadores moleculares (microsatélites) y a través de una herramienta estadística poder

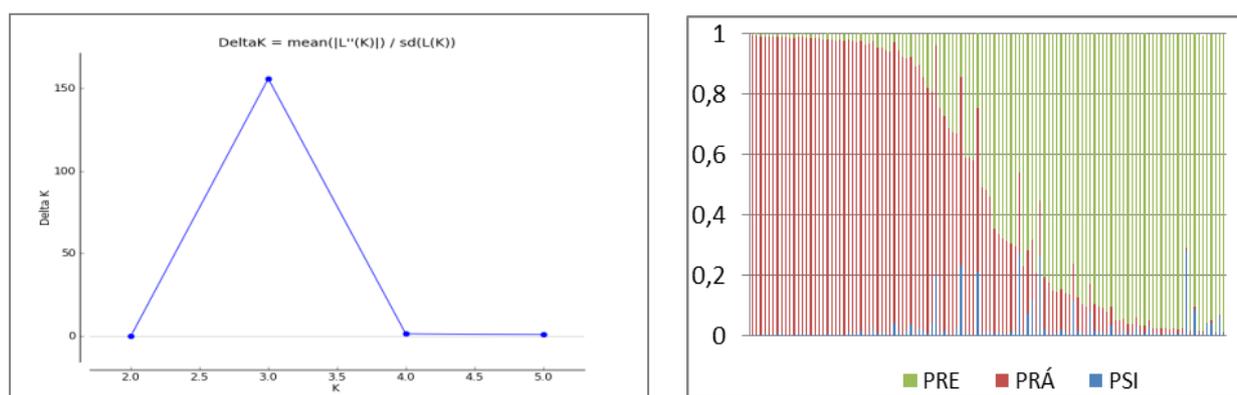
medir de una manera exacta este porcentaje de sangre y utilizar este parámetro como un efecto adicional a tener en cuenta en la evaluación genética de los reproductores de la raza.

### Material y métodos

Los datos genotípicos fueron obtenidos según la metodología estándar para la especie equina: se analizaron 22 marcadores microsatélites recomendados por la International Society of Animal Genetics (ISAG) (Vega-Pla *et al.* 2006). 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 han utilizado los genotipos de una muestra de 114 caballos HÁ, utilizando como poblaciones de referencia 48 caballos PRE y 60 caballos PRÁ, además de 46 pertenecientes al Pura Sangre Inglés (PSI) como outgroup. A través de un procedimiento estadístico se realizó un análisis de *Asignación a nivel individual* para asignar los caballos HÁ a las poblaciones PRE y PRÁ. Utilizando un algoritmo Bayesiano implementado en el software estadístico Structure v.2.0 (Pritchard *et al.* 2000) se realizaron 10 repeticiones de cada clúster (K2, K3, K4 y K5) usando un burnin y un número de iteraciones de 20,000 y 50,000, respectivamente. El número óptimo de iteraciones fue determinada con el parámetro *alpha* y el número más probable del clúster encontrado a través del cálculo de Evanno *et al.* 2005 (Evanno *et al.* 2005) y la media del índice de asignación a través de un cálculo simple realizado en Excel.

### Resultados y discusión

Lo que se pretende conocer con estos análisis es si el caballo HÁ cumple las siguientes hipótesis: 1) si el caballo HÁ es una raza homogénea que se diferencia de las razas paternas 2) si la raza HÁ conserva porcentajes del genoma del PRÁ y PRE y, 3) si es posible cuantificar el porcentaje de asignación a las razas paternas. El clúster más probable se obtiene cuando el K es igual a 3 (Figura 1) cuando todas las muestras analizadas se asignan a la raza PRÁ, PRE y PSI. En el K4 algunos animales de la raza HÁ se separan en un grupo genético diferente, sin embargo no se consideran estadísticamente significativo. Como se esperaba, los caballos HÁ se asignan tanto al grupo del PRE y PRÁ y tan solo 8 animales conservan pequeños porcentajes del PSI (7%), debido probablemente a algún ascendente de esta raza entre los progenitores. Los resultados de la asignación encontrada muestran como el 48% de los animales HÁ se asignan a la raza PRE ( $48,60 \pm 0,26$ ) y el 45% de los animales a la raza PRÁ ( $48,76 \pm 0,27$ ) (Figura 2).



**Figuras 1 y 2.** Gráfico de la estimación del número de clúster (K) más probable según el método de Evanno (2005). Y Representación grafica del porcentaje de asignación de los individuos HÁ a las muestras de referencia (PRE, PRÁ y PSI) [Graphic of the estimated most likely number of cluster (K) using the method of Evanno (2005). And graphic of Ha individual membership percentag to the reference samples (PRE, PRA and PSI)].

## Conclusiones

Con el presente trabajo se ha demostrado la utilidad de una herramienta estadística utilizando datos moleculares para inferir el porcentaje de genoma de una raza fruto de un cruce programado. Esto pone la base para futuros estudios de carácter más específico sobre la influencia del genotipo sobre el mérito genético de los animales.

## Bibliografía

- Delgado J.V., Vega-Pla J.L., León J.M., Rodríguez de la Borbolla A., Vallecillo A. & Cabello A. (2005) Program of Genetic Management of the Hispano-Árabe Horse Breed. *Archivos de Zootecnia* 54, 273-6.
- Evanno G., Regnaut S. & Goudet J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: a simulation study. *Molecular Ecology* 14, 2611-20.
- Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P. (2000) Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 155, 945-59.
- Vega-Pla J.L., Calderon J., Rodriguez-Gallardo P.P., Martinez A.M. & Rico C. (2006) Saving feral horse populations: does it really matter? A case study of wild horses from Donana National Park in southern Spain. *Anim Genet* 37, 571-8.