

## **CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LA RAZA CAPRINA RETINTA EXTREMEÑA MEDIANTE EL ESTUDIO DE MICROSATÉLITES.**

Parejo, J. C., Padilla, J. A., Sansinforiano, M.E., Rabasco, A., Martínez-Trancón, M., Portilla, J., Mateos, S., Salazar, J.

Dpto. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura. Campus Universitario s/n. 10071. Cáceres. jpadilla@unex.es

### **INTRODUCCIÓN**

Cualquier estrategia encaminada a la conservación de recursos genéticos animales requiere definir y evaluar los recursos que se hallen en peligro, para lo que se hace esencial una descripción y caracterización completa de los mismos así como un control de sus censos y sistemas de explotación.

La Retinta Extremeña es una raza caprina catalogada como raza autóctona de protección especial, que al igual que ocurre con otras muchas razas de nuestro país, está sufriendo las consecuencias del abandono de los sistemas de explotación tradicionales o su evolución hacia otros más intensivos y tecnificados, con la consiguiente sustitución de animales rústicos y adaptados al medio natural por otros más seleccionados y mejorados. Esta situación conlleva irremediablemente a una disminución del censo de estas razas rústicas, fragmentación de sus poblaciones por disminución del flujo genético entre ellas y aumento de la endogamia en grupos reproductivos aislados, resultando en una disminución del número efectivo poblacional y grave pérdida de variabilidad genética, que suele derivar en numerosas ocasiones en la extinción de estas razas.

En el caso concreto de la raza caprina Retinta Extremeña la disminución del censo ha sido drástica en los últimos 30 años, pasando de 655 machos y 16832 hembras en 1986 según datos de EAAP (European Association for Animal Production), a poco más de un millar de animales en la actualidad, repartidos en menos de 10 ganaderías.

Aunque esta raza se encuentra bien definida desde el punto de vista morfológico, productivo y reproductivo, es necesaria una adecuada caracterización genética como pilar fundamental para cualquier estrategia de conservación que se pretenda llevar a cabo en la raza.

Se ha demostrado que el estudio con marcadores microsatélites es una herramienta útil y eficaz para la evaluación de la diversidad genética de especies y razas, la distribución de ésta entre sus poblaciones y para el control de filiación de los animales mediante la utilización de pruebas de paternidad.

En este trabajo pretendemos la caracterización genética de la raza caprina Retinta Extremeña mediante el estudio de 22 loci microsatélites polimórficos.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Hemos utilizado muestras de sangre de 271 animales (60 ♂ y 211 ♀) de la raza Retinta Extremeña, procedentes de 8 ganaderías diferentes (CSR, CDM, JSM, JSQ, JLD, JPG, JRC y ART) y 30 animales de la raza Saanen (SAA) como grupo externo de referencia (outgroup). El ADN fue extraído utilizando el kit *Perfect gDNA Blood Mini* (Eppendorf AG). Los 22 microsatélites estudiados se amplificaron en reacciones de PCR individuales o múltiplex, utilizando cebadores marcados con diferentes fluorocromos. Los productos obtenidos se separaron mediante electroforesis capilar en un analizador genético ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems, USA) y se analizaron utilizando el software GeneMapper® 3.7.

Las estimaciones del número de alelos por locus, heterocigosidad observada y esperada, el PIC y el poder de exclusión del conjunto de loci se obtuvieron con el programa Cervus 2.0. (Tristan Marshall, 1998-2001). Los estadísticos F se estimaron mediante el programa GENETIX 4.05.2 (Belkir *et al.*, 2001) y las desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg por locus se estimaron mediante el test exacto con el programa GENEPOP 1.2 (Raimond y Rousset, 1995).

Las relaciones entre ganaderías se han representado gráficamente en forma de dendrograma según la distancia obtenida entre grupos  $D_A$  de Nei (1983) y el UPGMA como algoritmo de agrupación, con un remuestreo de 1000 iteraciones y utilizando el programa

DISPAN (Tatsuya, 1993). También se han utilizado métodos de inferencia bayesiana para determinar si existe algún tipo de estructura genética en la raza, corriendo varias simulaciones bajo el modelo con mestizaje y frecuencias alélicas correlacionadas (modelo F) con el programa STRUCTURE 2.1. (Pritchard *et al.*, 2000).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en la raza Retinta Extremeña: el número de alelos obtenidos (k), las heterocigosidades esperada (He) y observada (Ho), el contenido de información polimórfica (PIC) y los loci que presentaron desviaciones del equilibrio H-W, con su significación.

Locus	k	H(O)	H(E)	PIC	HW
SRCRSP008	9	0.638	0.686	0.631	
OarFCB48	13	0.849	0.846	0.826	
SRCRSP024	12	0.642	0.697	0.658	***
INRA005	6	0.506	0.573	0.523	
ILSTS005	7	0.565	0.652	0.601	***
ETH10	4	0.509	0.551	0.46	
SRCRSP005	9	0.627	0.62	0.583	
SRCRSP009	12	0.841	0.86	0.843	
CSRD247	9	0.79	0.823	0.797	
SRCRSP023	15	0.852	0.854	0.838	*
INRABERN172	9	0.745	0.827	0.801	**
TGLA53	10	0.402	0.466	0.45	***
TGLA122	8	0.683	0.762	0.723	
CSRM60	7	0.779	0.824	0.799	
BM1818	12	0.771	0.823	0.798	
BM2113	10	0.52	0.581	0.549	
OarFCB20	7	0.454	0.545	0.517	
INRA023	11	0.749	0.774	0.739	
INRA032	9	0.668	0.666	0.612	
HAUT27	7	0.793	0.778	0.74	
ILSTS087	10	0.672	0.71	0.664	
INRA063	8	0.472	0.671	0.612	***

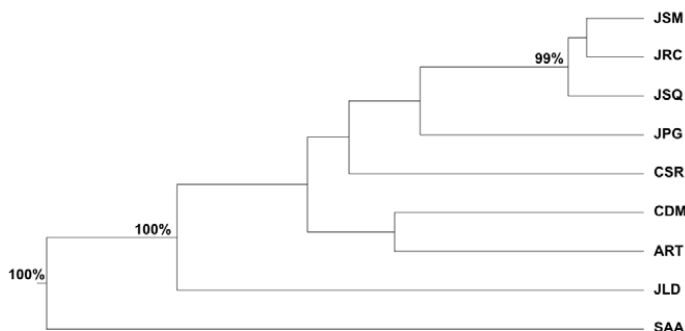
Tabla 1: Número de alelos (k), heterocigosis observada (Ho) y esperada (He), contenido de información polimórfica (PIC) y desviación del equilibrio Hardy-Weinberg (H-W), en cada uno de los loci analizados.

Hemos obtenido un total de 204 alelos, con un número de alelos por locus que osciló entre 4 y 15 y una media de  $9,27 \pm 2,55$ . Las heterocigosidades medias esperada y observada fueron de  $0,7087 \pm 0,025$  y  $0,6603 \pm 0,0061$  respectivamente y el PIC medio obtenido con todos los loci fue de 0,671.

Con los 22 microsatélites estudiados, el poder de exclusión total obtenido ha sido del 0.999917 para el primer parental y de 1 para el segundo parental, con lo que se pone de manifiesto que este grupo de marcadores tiene una capacidad de discriminación suficiente para ser utilizados en controles de filiación en la raza. No obstante, debemos estudiar si las desviaciones del equilibrio H-W presentadas por algunos loci son debidas a la presencia de alelos nulos, en cuyo caso podrían conllevar errores o dudas en las pruebas de paternidad (Dakin y Avise, 2004), y deberán ser obviados para estas pruebas.

Los valores medios de los estadísticos F obtenidos ( $F_{IS}=0.00601$ ,  $F_{IT}=0.07734$  y  $F_{ST}=0.07176$ ; Weir y Cockerham, 1984) junto con el valor de  $G_{ST}=0.076$  (Nei, 1973, 1977) obtenido para el conjunto de loci en toda la población indican que, aunque de forma moderada, empieza a existir cierta estructura en la población o diferenciación entre grupos reproductivos. Esta estructura la hemos representado gráficamente en forma de dendrograma (Figura 1), donde podemos observar como tres de las ganaderías muestran unas relaciones más cercanas entre ellas que con el resto (JSM, JRC y JSQ), y una de ellas (JLD), muestra una clara distancia con las demás. La raza Saanen, utilizada como “outgroup”, nos ha servido para poder mostrar un dendrograma enraizado.

Figura 1: Dendrograma de las 8 ganaderías estudiadas de la raza



Retinta extremeña y la raza Saanen como “outgroup”.

Esta representación coincide plenamente con los resultados obtenidos utilizando métodos de inferencia bayesiana del número de subpoblaciones. La mayoría de las simulaciones que se corrieron utilizando el programa STRUCTURE 2.1 estimaron un total de 6 subpoblaciones en la raza Retinta Extremeña ( $K=6$ ), donde una de ellas está constituida por las tres ganaderías más cercanas representadas en el dendrograma (JSM, JRC y JSQ), y las otras 5 se corresponden con el resto de ganaderías estudiadas.

Desgraciadamente y atendiendo a la evolución de la raza caprina Retinta Extremeña en los últimos años, es necesario la definición y puesta en marcha de un plan de conservación de la misma, antes de que el número de efectivos vivos y su variabilidad genética descendan hasta niveles irrecuperables. Los resultados obtenidos en este trabajo serán de mucha utilidad para la toma de decisiones en dicho plan de conservación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., Bonhomme, F. 1996-2004 GENETIX 4.05, Université de Montpellier II, (France).
- CERVUS 2.0. General release version – 24 April 2001. Copyright Tristan Marshall 1998-2001.
- Dakin, E.E., Avise, J.C. 2004. Heredity 93:504-509.
- Nei, M. 1973. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA. 70:3321-3323.
- Nei, M. 1977. Annals of human genetics. 41:225-233.
- Nei, M., Tajima, F., Tateno, Y. 1983. Journal of molecular evolution. 19:153-170.
- Pritchard, J.K., Stephens, M., Donnelly, P. 2000. Genetics 155: 945–959.
- Raymond, M., Rousset, F, 1995. J. Heredity, 86:248-249.
- Tatsuya, O. (1993). The Pennsylvania State University. 328 Mueller Laboratory. University Park, PA 16802, USA.
- Weir, B.S., Cockerham, C.C. 1984. Evolution 38: 1358-1370.

Este trabajo es fruto de un Convenio Junta de Extremadura-UEx en materia de Conservación de Razas. Cofinanciado con fondos europeos FEOGA-ORIENTACIÓN medida 7.8 del programa operativo integrado de Extremadura 2000-2006.