

DIVERSIDAD GENÉTICA EN LAS RAZAS DE GALLINAS DEL PROGRAMA DE CONSERVACION DEL INIA

Dávila, S. G.¹, Gil, M. G.¹, Resino-Talaván, P.¹ y Campo, J. L.¹

¹Departamento de Mejora Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Apartado 8111, 28080 Madrid.
e-mail: ggil@inia.es

INTRODUCCIÓN

Las razas locales son una reserva de variabilidad que merece ser investigada y tratada adecuadamente. Con el desarrollo de la avicultura industrial en los años 50 y 60 y la creación de híbridos para producir huevos y carne, el número de razas tradicionales cayó drásticamente casi hasta el punto de su extinción.

En el año 1975 el Departamento de Mejora Genética Animal del INIA inició el Programa de Conservación de Razas Españolas de Gallinas (Campo y Orozco, 1982). El objetivo que tenía este programa era mantener la diversidad de razas que existían en España. Algunas de las gallinas españolas que forman parte del programa son especialmente singulares: la Castellana Negra, la raza mediterránea más antigua introducida por los árabes en el siglo VIII, la Española Cara Blanca, única raza existente en el mundo con la cara blanca, y la Andaluza Azul, portadora del gen azul en heterocigosis.

Los recientes avances en la tecnología molecular han abierto nuevos horizontes para la estimación de la relación genética entre y dentro de las poblaciones animales, proporcionando los marcadores moleculares una herramienta muy importante para las estrategias de conservación. Hasta el momento los marcadores microsatélites se han utilizado en diferentes estudios para determinar la diversidad de las razas de gallinas. Muchos de ellos se han hecho en las razas de gallinas asiáticas (Takahashi et al, 1998; Zhang et al, 2002; Osman et al, 2006; Ya-Bo et al, 2006; Tadano et al., 2007). Wimmers et al. (2000) estudiaron la diferencia genética entre gallinas de África, Asia y Sudamérica, y Romanov y Weigend (2001) analizaron las relaciones genéticas entre diversas razas de gallinas europeas y su antepasado salvaje. En el Proyecto AVIANDIV (Hillel et al., 2003) se analizaron las relaciones genéticas entre gran número de razas de gallinas de Europa, Asia y África, y Berthouly et al. (2008) estudiaron la diversidad genética de las razas de gallinas francesas y asiáticas, comparándola con las del proyecto AVIANDIV. Por último, Twito et al. (2007) compararon la biodiversidad de 20 razas de gallinas mediante SNPs y marcadores microsatélites, observando que cuando se utilizan microsatélites las asignaciones de los individuos a las poblaciones son más correctas debido a la naturaleza multialelica de este tipo de marcadores.

En este trabajo se presentan los resultados de la investigación de la variabilidad genética de las razas incluidas en dicho programa de conservación, 13 razas de gallinas españolas, una línea trigueña recesiva y una población Leghorn Blanca usando 24 marcadores microsatélites. Las distancias genéticas entre estas razas se han incluido en el Catálogo de Razas Españolas de Gallinas publicado en 2010 por el INIA (<http://www.inia.es/>)

MATERIAL y METODOS

Se utilizaron un total de 24 gallinas de cada una de las 15 poblaciones que se mantienen en la granja experimental de El Encin (Madrid), 6 ponedoras de huevo blanco (Castellana Negra, Española Cara Blanca, Menorca Negra, Andaluza Azul, Andaluza Perdiz y Andaluza Franciscana), 2 de huevo crema (Prat Leonada y Prat Blanca), y 2 ponedoras de huevo marrón (Vasca Barrada y Villafranquina Roja). La raza Leonesa (Parda e India) se usa para producir mosca artificial a partir de las plumas para su uso en los anzuelos de pesca. En este trabajo también se incluían una raza sintética, la Castellana Codorniz (Campo y Orozco, 1986), una línea trigueña recesiva (Smyth, 1976), y una población Leghorn Blanca (Campo y Jurado, 1982).

Se tomaron muestras de sangre mediante punción en la vena braquial con tubos estériles con EDTA como anticoagulante. Para la extracción de ADN, se siguió un protocolo clásico a partir de 40 µl de sangre entera, obteniéndose una disolución final de DNA de 15 ng/µl. Se escogieron 24 marcadores microsatélites, elegidos por su localización genómica y su grado de polimorfismo. La amplificación de los marcadores se realizó mediante PCR. El genotipado de los productos de PCR se realizó con un secuenciador ABI 370 DNA Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) por electroforesis capilar con marcaje fluorescente. Se utilizaron los programas *POPGENE* (Yeh et al., 1999), *FSTAT* (Goudet., 2001), *DISPAN* (Ota, 1993), y *CERVUS* (Kalinowski et al., 2007) para el análisis de los resultados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectaron 150 alelos con los 24 microsatélites utilizados en todas las razas, de los cuales 72 no estaban presentes en la población Leghorn Blanca. El número medio de alelos por locus fue 6.25 y el número efectivo de alelos tenía un valor medio de 3.34. El contenido de información polimórfica media fue de 0.59. La heterocigosis observada fue menor que la esperada en todos los loci, el valor medio fue de 0.46 y 0.64, respectivamente. El déficit medio de heterocigotos dentro de poblaciones (F_{IS}), el índice de fijación medio de cada población (F_{ST}), y el déficit medio total de heterocigotos en la población (F_{IT}) fueron 0.06, 0.24, y 0.29, respectivamente.

La mayoría de los marcadores microsatélites utilizados en este estudio mostró un alto grado de polimorfismo. Los resultados de nuestro estudio fueron similares a los encontrados por Takahashi et al. (1998), Wimmers et al. (2000), Ya-Bo et al. (2006), Tadano et al. (2007), y Berthouly et al. (2008). El grado de heterocigosis esperada fue en general superior a 0.5, lo que sugiere la utilidad de estos marcadores para este tipo de estudio. Los valores obtenidos del índice medio de fijación (F_{ST}) indican un alto grado de diferenciación de la población. Normalmente, un índice de fijación de 0.15 se considera una indicación de la diferenciación significativa entre las poblaciones (Frankham et al., 2002.), este valor se dio en la gran mayoría de los loci. El índice de fijación media fue similar a los indicados anteriormente por Tadano et al. (2007), y Berthouly et al. (2008).

En la mayoría de las poblaciones la heterocigosis media esperada fue mayor que la observada. La heterocigosis media observada fue de 0.46, mientras que la heterocigosis media esperada fue de 0.49. Todas las razas españolas, excepto la Castellana Codorniz tenían un mayor grado de heterocigosis observada que la población Leghorn Blanca. El número de alelos por locus y raza osciló entre 3 y 4, con valor medio de 3.41. Cuatro de las razas estudiadas mostraron déficit de heterocigotos, mientras que las 11 restantes mostraron exceso, el valor promedio fue de 0.05. El número de loci que se desvió significativamente del equilibrio de Hardy-Weinberg variaba entre 1 y 6.

Los marcadores utilizados en este estudio pueden ser de gran interés para la identificación genética de los animales, se observaron 15 alelos específicos de raza en 10 de los loci microsatélites estudiados (en 6 de las poblaciones de gallinas españolas y en la población de Blanca Leghorn) y 15 alelos fijados en 7 de los loci para 9 de las poblaciones estudiadas. Los valores de la heterocigosis media observada en las 13 razas españolas están de acuerdo con los indicados por Hillel et al. (2003), Wimmers et al. (2000), Tadano et al. (2007), y Berthouly et al. (2008). Todas las poblaciones mostraron desviaciones significativas del equilibrio de Hardy-Weinberg, lo que sugiere que las razas españolas de gallinas han sido seleccionadas durante años para características morfológicas, aunque no se puede descartar que esto también pueda deberse a la presencia de alelos nulos o un error de genotipado.

Las distancias genéticas de Nei variaban entre 0.11 (entre la Española Cara Blanca y la Menorca Negra) hasta 0.44 (entre la Prat Leonada y Leghorn Blanca). La distancia genética entre las razas españolas ponedoras de huevo blanco y la Leghorn Blanca oscilaba desde 0.25 (Menorca Negra) y 0.35 (Andaluza Franciscana), mientras que la distancia genética entre las razas españolas y la Leghorn Blanca iba desde 0.25 hasta 0.45. En nuestro estudio, los dos razas españolas (Castellana Negra y Villafranquina Roja) que también formaban parte del proyecto AVIANDIV, tenían una distancia genética entre ellas y la población Leghorn Blanca menor que la que indicaban Hillel et al. (2003), que eran 0.43,

0.64 y 0.45 respectivamente. Esto puede deberse a que la población de Leghorn utilizada en nuestro estudio tiene un origen diferente a la utilizada en proyecto AVIANDIV que había sido seleccionada durante más generaciones para puesta, además los valores de distancias genéticas pueden depender del grupo en el que se incluyan las poblaciones estudiadas (52 en el proyecto AVIANDIV).

En conclusión, el panel de marcadores microsatélites que hemos usado en nuestro estudio puede ser de gran utilidad en el estudio de la diversidad genética en razas de gallinas, mostrando un alto grado de polimorfismo, y un alto grado de diferenciación de la población. Las razas españolas presentan un elevado número de alelos específicos y son más polimórficas que la población Leghorn Blanca, lo que sugiere gran potencial para su uso en sistemas de producción alternativa. A pesar de que las gallinas españolas tradicionalmente han sido seleccionadas para caracteres morfológicos, se encuentra una separación clara entre la Leghorn Blanca y las razas españolas, lo que indica la importancia de incluir a esas poblaciones en los programas de conservación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Berthouly et al. 2008. *Anim. Genet.* 39:121–129. ● Blackburn, H. D. 2006. *Poult. Sci.* 85:210–215. ● Campo, J. L. 1991. *Poult. Sci.* 70:1469–1473. ● Campo, J. L. & Jurado, J. J.. 1982. *Proc. 2nd World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.* ● Campo, J. L. & Orozco, F. 1982. *Proc. 2nd World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.* ● Campo, J. L. & Orozco F. 1986. *Br. Poult. Sci.* 27:361–367. ● Frankham. et al. 2002. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK. ● Goudet, J. 2001. FSTAT, version 2.9.3. <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> Accessed May 26, 2009. ● Hillel et al 2003. *Genet. Sel. Evol.* 35:533–557. ● Kalinowski, et al. 2007. *Mol. Ecol.* 16:1099–1106. ● Osman et al. *Jpn. Poult. Sci.* 43:12–22. ● Ota, T. 1993. *DISPAN*. Penn. State Univ., University Park, PA. Smyth, J. R., Jr. 1976. *Proc. 25th Poult. Breed. Roundtable.* ● Romanov, M. N. & Weigend, S.. 2001. *Poult. Sci.* 80:1057–1063. ● Tadano, R. 2007. *Poult. Sci.* 86:460–469. ● Takahashi et al. 1998. *J. Hered.* 89:543–546. ● Twito et al. 2007. *Cytogenet. Genome Res.* 117:319–326. ● Wimmers et al 2000. *Anim. Genet.* 31:159–165. ● Ya-Bo et al 2006. *Int. J. Poult. Sci.* 5: 550–556. ● Yeh et al. 1999. *POPGENE* (version 1.31). ● Zhang et al. 2002. *Poult. Sci.* 81:1463–1472.

GENETIC DIVERSITY AMONG CHICKEN BREEDS OF THE CONSERVATION PROGRAM OF THE INIA

ABSTRACT: The present study was conducted to evaluate the genetic variability and the genetic divergence of 13 Spanish chicken breeds, a tester line, and White Leghorn populations, using 24 microsatellite markers, 150 alleles were detected across all population. The number of alleles by locus ranged from 2 to 13, with the mean value being 6.25. The mean polymorphic information content was 0.59, ranging from 0.85 to 0.17. The observed heterozygosity was lower than the expected heterozygosity for all loci, the mean values being 0.46 and 0.64. The observed and expected heterozygosity ranged from 0.003 to 0.73 and 0.18 to 0.86, respectively. Mean deficit of heterozygotes within populations (F_{IS}) was 0.06 and mean fixation index of each population (F_{ST}) was 0.24. The mean global deficit of heterozygotes across populations (F_{IT}) was 0.29. A total of 15 private alleles in 10 microsatellites were observed, and in some populations, fixed alleles were found for 7 microsatellites. The average observed heterozygosity for each population was 0.46, ranging from 0.33 (Quail Castellana) to 0.54 (Red Villafranguina), and the average expected heterozygosity was 0.49, ranging from 0.32 (Quail Castellana) to 0.55 (White-Faced Spanish). All of the Spanish breeds except the Quail Castellana were more polymorphic than the White Leghorn population. The mean value of the deviation of heterozygote number was 0.05 breeds. Nei's genetic distance showed a range from 0.11 (between White-Faced Spanish and Black Menorca) to 0.44 (between Buff Prat and White Leghorn). The results indicate that the panel of microsatellite markers was useful in studying the genetic diversity of chicken breeds.

Keywords: Spanish breeds, chicken, microsatellite marker, genetic diversity.