

Pérdidas de diversidad genética en la raza ovina Xalda de Asturias debidas a la selección contra la susceptibilidad al scrapie

I. Álvarez*, L.J. Royo*, J.P. Gutiérrez**, J.J. Arranz***, I. Fernández*, F. Goyache*

* Área de Genética y reproducción Animal. SERIDA-Somío, C/ Camino de los Claveles 604, 33203-Gijón (Asturias), e-mail: fgoyache@serida.org.

** Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040-Madrid, Spain.

*** Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071-León.

Resumen

Este trabajo pretende evaluar el efecto de la selección contra la susceptibilidad al scrapie en la variabilidad genética de la raza ovina Xalda de Asturias mediante el uso de información genealógica y molecular. El Libro Genealógico de la raza Xalda incluía 1851 animales (1444 vivos). Se muestrearon 304 animales y se genotiparon con 14 microsatélites. La variabilidad genética se evaluó mediante la heterocigosis esperada (H_e ; obtenida a partir de información molecular) y *gene diversity* (GD; obtenida a partir de información genealógica). Se identificaron los animales nacidos en la última estación de partos y seleccionados para reproductores. Las pérdidas de variabilidad genética se calcularon incluyendo o no el genotipo de scrapie como un criterio añadido a la selección. La inclusión del genotipo de scrapie como criterio de selección produce pérdidas añadidas de más de un 2% para H_e en las hembras. En cuanto a los machos, la situación es más crítica debido al pequeño número de carneros disponibles de genotipo ARR/ARR. Se discuten las consecuencias para el manejo de la raza Xalda.

Palabras clave: Variabilidad genética, Información genealógica, Microsatélites, Programa de conservación, PrP.

Summary

Losses of genetic diversity in the rare Xalda sheep breed due to the implementation of a selective policy including the increase of resistance to scrapie

The aim of this note was to assess the effect of selection to reduce sensitivity to scrapie on the genetic variability in the rare Xalda sheep breed of Asturias using genealogical and molecular information. Pedigree information comprised 1851 animals (1444 alive) at the moment of sampling. A total of 304 reproductive (or selected for reproduction) Xalda individuals were sampled and genotyped for 14 microsatellites. Genetic variability was assessed via expected heterozygosity (H_e ; obtained from molecular information) and gene diversity (GD; obtained from genealogical information). The individuals born during the last lambing season and further selected for reproduction were identified. Losses of genetic variability in the Xalda breed were computed considering the scrapie genotype as an additional selection criterion or not. Selection against sensitivity to scrapie produces additional losses of more than 2% for H_e in the females. Regarding the males, the situation becomes critical because of the little available number of ARR/ARR rams. Consequences on the management of the Xalda breed are discussed.

Key words: Genetic variability, Genealogical information, Microsatellites, Conservation program, PrP.

Introducción

Las mutaciones identificadas en el codón 136, 154 y 171 de la región codificante del gen prión en la oveja (PrP) han demostrado cierta relación con el grado de susceptibilidad al scrapie en la oveja (Hunter, 1997; Elsen et al., 1999; O'Doherty et al., 2002) y, en general, se acepta que las mutaciones que codifican A₁₃₆ y R₁₇₁ (alanina y arginina en los correspondientes codones, respectivamente) confieren resistencia y las que codifican V₁₃₆ y Q₁₇₁ (valina y glutamina en los correspondientes codones, respectivamente) producen mayor susceptibilidad al scrapie. La Unión Europea ha clasificado los alelos y los genotipos del scrapie según las mutaciones que se encuentren en los codones 136, 154 y 171 según su sensibilidad al scrapie y prevé la ejecución de programas de selección tendentes a incrementar la frecuencia del alelo ARR y el genotipo ARR/ARR y la eliminación del alelo VRQ. Por otra parte, el alelo ARQ, que suele ser el más frecuente en razas de lana basta (Gama et al., 2006) se ha asociado al mayor riesgo de aparición de encefalitis espongiiforme bovina (BSE) en ovejas (Baylis, 2002).

La protección de la base genética de una población en riesgo se suele realizar a partir de los valores de consanguinidad (Windig et al., 2004). Sin embargo, este parámetro es muy dependiente de la calidad del pedigrí, por lo que otros autores (Caballero y Toro, 2000, 2002) utilizan como criterio la heterocigosis esperada. Por otra parte, Caballero y Toro (2002) han formalizado la obtención de coeficientes de coascendencia a partir de información molecular.

Los estudios sobre el efecto de los programas de selección tendentes a reducir la susceptibilidad al scrapie sobre la variabilidad genética de razas ovinas en peligro son escasos (Windig et al., 2004). Nuestro objetivo es evaluar el efecto sobre la variabilidad

genética en la raza Xalda (Álvarez Sevilla et al., 2004; Goyache et al., 2003) de un programa de selección contra la susceptibilidad al scrapie que cumpla con los siguientes intereses de los criadores de esta raza agrupados en ACOXA: a) cumplir con los requisitos de la Unión Europea; y b) reducir la frecuencia del alelo ARQ para reducir el riesgo para la salud humana.

Material y métodos

Se ha analizado el Libro Genealógico de la oveja Xalda que incluye un total de 1851 animales de los que 1444 (134 machos) estaban vivos en el momento del análisis. Los animales vivos se agruparon en las siguientes categorías: a) machos jóvenes (MJ; 11) b) hembras jóvenes (HJ; 182); c) machos adultos (MA; 123); y d) hembras adultas (HA; 1128). Las categorías MJ y HJ incluyeron los individuos nacidos en la última estación de partos y seleccionados como reproductores por los ganaderos, mientras que las categorías MA y HA incluyeron los animales con capacidad reproductiva de la población presente. Se obtuvieron muestras de sangre de 304 individuos de raza Xalda provenientes de 58 rebaños diferentes y se asignaron a los correspondientes grupos: MJ (11), HJ (33), MA (48) y HA (212). Se extrajo el ADN total mediante procedimientos estándar y se genotiparon las muestras con 14 marcadores microsatélites (BM8125, BM6526, CP34, BM757, INRA006, BM6506, BM1818, FCB128, CSSM31, CSSM66, ILSTS011, McM53, RM006, ILSTS005) en la forma descrita por Álvarez et al. (2004; 2005b). ACOXA aportó los genotipos de scrapie de los animales HJ y MJ, analizados en el Laboratorio de Algete del Ministerio de Agricultura, que fueron clasificados en los grupos de riesgo (desde R1, muy bajo, a R5 el mayor riesgo) definidos por la Unión Euro-

pea. Los animales MJ y HJ seleccionados según su genotipo de scrapie se denominaron MJs y HJs.

A partir de la información genealógica disponible se calculó la matriz de coascendencias entre los animales mediante el programa ENDOG v3.0 (Gutiérrez y Goyache, 2005), tal como se provee en la dirección <http://www.ucm.es/info/prodanim/Endog30.zip>, y se promedió para cada grupo de individuos: MA, HA, MJ, HJ, MJs y HJs. La heterocigosis esperada obtenida a partir de información genealógica (GD) se calculó como $GD = 1 - \bar{f}$ (Caballero y Toro, 2000), siendo \bar{f} la coascendencia media de los animales de cada grupo. A partir de los genotipos individuales se calculó la heterocigosis esperada (H_e) en cada grupo de individuos utilizando el programa MolKin v2.0 (Gutiérrez et al., 2005) tal como se provee en la dirección <http://www.ucm.es/info/prodanim/Molkin2.zip>.

Se evaluó una estrategia que no incluyera el genotipo del scrapie en la selección de animales MJ y HJ en comparación con otra que solo permitiera la selección de animales HJ

de genotipo ARR/ARR y animales HJ con genotipos incluidos en los grupos de riesgo R1, R2 y R3. Los valores obtenidos para GD y H_e en los grupos MJ, HJ, MJs y HJs se compararon con los correspondientes valores en los grupos MA y HA que fueron considerados representativos de la variabilidad genética existente en la raza.

Resultados y discusión

Las frecuencias genotípicas para el gen PrP en los individuos MJ y HJ se muestran en la tabla 1. Solo se encontraron 8 de los 15 genotipos posibles. El genotipo ARQ/ARQ fue el más frecuente (55,4%) mientras que el ARR/ARR solo estuvo presente en el 5,7% de los individuos (sólo dos machos jóvenes). El genotipo ARR/ARQ estaba presente en, aproximadamente, un tercio de los individuos. Las frecuencias obtenidas son similares a las presentadas previamente por Álvarez et al. (2005a) en la raza Xalda y a las que se encuentran en otras razas ibéricas de lana basta (Gama et al., 2006).

Tabla 1. Clasificación de los genotipos PrP en grupos de riesgo, descripción del grupo y frecuencias genotípicas para el gen PrP en los individuos MJ y HJ (ver texto). Las frecuencias genotípicas se ofrecen en valores absolutos y porcentajes (entre paréntesis)

Table 1. Classification of PrP genotypes into risk groups, risk description and genotype frequencies for the PrP gene in MJ and HJ (see text) individuals. Frequencies are given in absolute values and as percentages (in brackets)

Genotipo	Grupo de riesgo	Descripción del riesgo		Individuos		Total
		individual	en la descendencia	MJ	HJ	
ARR/ARR	R1	Muy baja	Muy baja	2 (18,18)	9 (4,95)	11 (5,70)
ARR/AHQ	R2	Baja	Baja		1 (0,55)	1 (0,52)
ARR/ARH	R3	Baja	No baja		1 (0,55)	1 (0,52)
ARR/ARQ				1 (9,09)	60 (32,97)	61 (31,61)
ARR/VRQ	R4	Enfermedad diagnosticada ocasionalmente	El riesgo es más alto que en el grupo R3	2 (1,1)	99 (54,4)	2 (1,04)
ARQ/ARQ				8 (72,73)	7 (3,85)	107 (55,44)
ARQ/ARH					7 (3,85)	7 (3,63)
ARQ/VRQ	R5	Alto riesgo	Alto riesgo		3 (1,65)	3 (1,55)

Las heterocigosis esperada y GD para el total de la población analizada fueron de, respectivamente, 0,685 y 0,987 (tabla 2). La relación entre los valores de H_e y GD que se muestran para cada grupo en la tabla 2 se detallan gráficamente en la figura 1 como porcentaje de la variabilidad genética de los grupos MA y HA retenidas por los grupos, respectivamente, HJ y HJs (imagen A) y MJ y MJs (imagen B). Los individuos HJ retienen el 92,64% de valor de los animales HA para el parámetro H_e y el 99,48% para GD. Los animales HJs retuvieron, a su vez, más del 97,5% de la variabilidad calculada en los animales HJ para H_e y GD. Los ratios correspondientes a los grupos MJ y MJs siguen un patrón parecido: los animales MJ retuvieron el 97,07% y 100% de la variabilidad de los animales para H_e y GD. Los animales MJs retuvieron, a su vez, el 79,89% y 98,75% de los valores de H_e y GD en el grupo MA.

El presente análisis asume que la mayor causa de pérdidas de variabilidad genética en la raza Xalda es la deriva producida cuando se selecciona un nuevo grupo de

animales para reproducción. En la raza Xalda no hay una política de apareamientos estricta para minimización del parentesco de los reproductores y las decisiones se toman a nivel de rebaño (Goyache et al., 2003). Los nuevos requisitos de selección contra la susceptibilidad al scrapie deben evaluarse sobre las pérdidas de deriva por selección ya asumidas. Las pérdidas añadidas de variabilidad genética en los animales HJ respecto del grupo HA son de alrededor del 5% para la información molecular y prácticamente nulas para la información genealógica con unas pérdidas adicionales de H_e en los animales HJs de algo más de un 2%. La situación en los machos es más preocupante porque solo hay dos machos en el grupo MJs lo que provoca que sus valores de H_e sean el 20% menores que los del grupo MJ lo que puede limitar las posibilidades de mantenimiento de la raza a largo plazo. En este sentido, la ejecución de un programa de selección contra la susceptibilidad al scrapie en la raza Xalda debe incluir apareamientos dirigidos a obtener machos ARR/ARR.

Tabla 2. Valores de H_e y GD en los grupos de individuos de raza Xalda definidos en el texto según edad (adultos o jóvenes) y sexo (machos o hembras). En el caso de machos y hembras jóvenes (MJ y HJ, respectivamente) se muestran los valores obtenidos cuando se tiene en cuenta el genotipo de scrapie como criterio de selección (MJs y HJs, respectivamente)

Table 2. Values for H_e and GD in the groups of Xalda individuals defined according to age (adult or young) and sex (male and female). For young males and young females (MJ and HJ, respectively) the values obtained when the genotype of scrapie is used as a selection criterion (MJs and HJs, respectively), are also shown

Grupo	H_e	GD
HA	0,699	0,987
MA	0,693	0,981
HJ	0,648	0,982
MJ	0,672	0,982
HJs	0,631	0,981
MJs	0,537	0,970
Total	0,685	0,987

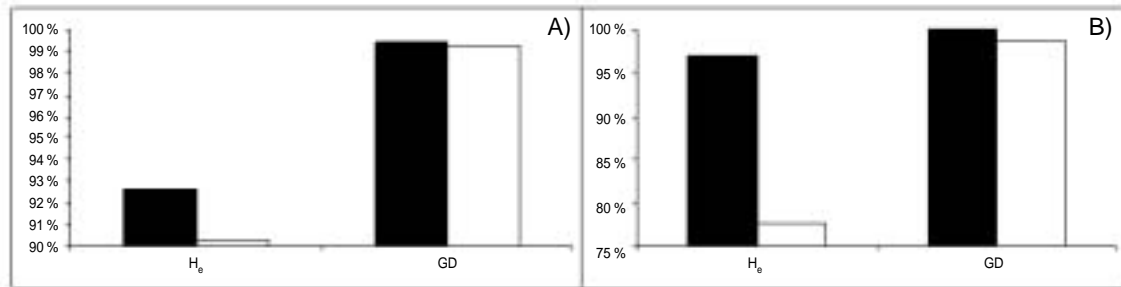


Figure 1. Porcentaje de variabilidad genética (expresada como H_e y GD, ver texto) retenida por los grupos HJ y HJs (imagen A) y MJ y MJs (imagen B) respecto de variabilidad genética existente, respectivamente, en los grupos HA y MA. Los porcentajes relativos a los grupos no seleccionados por el genotipo de scrapie se muestran en barras negras y los de los grupos MJs y HJs en barras blancas.
 Figure 1. Percentage of genetic variability (measured as H_e and GD, see text) retained by the groups HJ and HJs (plot A) and MJ and MJs (plot B) with respect the genetic variability assessed, respectively, within the groups HA and MA. The percentages concerning the MJ and HJ groups are shown in black bars and those concerning the MJs and HJs groups are shown in open bars.

Agradecimientos

Este trabajo se ha financiado mediante los proyectos MEC-INIA RZ2004-00007-C02 y PC-REC04-27 del Gobierno del Principado de Asturias. Los autores agradecen a la asociación de criadores ACOXA (<http://www.xalda.com/>) su total colaboración.

Bibliografía

- Álvarez I, Royo, LJ Fernández I, Gutiérrez JP, Gómez E, Goyache F, 2004. Genetic relationships and admixture between six Northern Spain sheep breeds assessed through microsatellites. *J. Anim. Sci.* 82: 2246-2252.
- Álvarez I, Fernández I, Goyache F, Arranz JJ, Gutiérrez JP, Gómez E, Royo LJ, 2005a. Frecuencias alélicas y genotípicas del gen PRP en la raza ovina Xalda de Asturias en relación con el color de la capa. *ITEA* 26 Vol. Extra I: 75-77.
- Álvarez I, Gutiérrez JP, Royo LJ, Fernández I, Gómez E, Arranz JJ, Goyache F, 2005b. Testing the usefulness of the molecular coancestry information to assess genetic relationships in livestock using a set of Spanish sheep breeds. *J. Anim. Sci.* 83: 737-744.
- Álvarez Sevilla A, Gutiérrez JP, Fernández I, Royo LJ, Álvarez I, Gómez E, Goyache F, 2003. Conservación de la oveja Xalda de Asturias. *AGRI* 34: 41-49.
- Baylis M, 2002. The BSE-susceptible proportion of UK sheep. *Vet. Record* 151: 481-482.
- Caballero A, Toro MA, 2000. Interrelations between effective population size and other pedigree tools for the management of conserved populations. *Genet. Res. Camb.* 75: 331-343.
- Caballero A, Toro MA, 2002. Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. *Conserv. Genet.* 3: 289-299.
- Elsen JM, Amigues Y, Schelcher F, Ducrocq V, Andreoletti O, Eychenne F, Tien Khang JV, Poivey JP, Lantier F, Laplanche JP, 1999. Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie: detailed analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. *Archives of Virology* 144, 431-445.
- Gama LT, Carolino MI, Santos-Silva MF, Pimenta JA, Costa MS, 2006. Prion protein polymor-

- phisms and breeding strategies in Portuguese breeds of sheep. *Livestock Science* 99, 175-184.
- Goyache F, Gutiérrez JP, Fernández I, Gómez E, Álvarez I, Díez J, Royo LJ, 2003. Monitoring pedigree information to conserve the genetic variability in endangered populations: the Xalda sheep breed of Asturias as an example. *J. Anim. Breed. Genet.* 120: 95-103.
- Gutiérrez JP, Goyache F, 2005. A note on ENDOG: a computer program for analysing pedigree information. *J. Anim. Breed. Genet.* 122: 357-360.
- Gutiérrez JP, Royo LJ, Álvarez I, Goyache F, 2005a. MolKin v2.0: a computer program for genetic analysis of populations using molecular coancestry information. *J. Hered.* 96: 718-721.
- Hunter N, 1997. Molecular biology and genetics of scrapie in sheep. In: Piper, L., Ruvinsky, A. (Eds.), *The Genetics of Sheep*. CAB International.
- O'Doherty E, Healy A, Aherne M, Hanrahan JP, Weavers E, Doherty M, Roche JF, Gunn M, Sweeney, T., 2002. Prion protein (PrP) gene polymorphisms associated with natural scrapie cases and their flock-mates in Ireland. *Research in Veterinary Science* 73, 243-250.
- Windig JJ, Eding H, Moll L, Kaal L, 2004. Effects on inbreeding of different strategies aimed at eliminating scrapie sensitivity alleles in rare sheep breeds in The Netherlands. *Animal Science* 79, 11-20.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)