EVOLUCION DE UNA POBLACION DE MERINO ESPAÑOL CON MARCADORES GENETICOS.

EVOLUTION OF A POPULATION OF SPANISH MERINO WITH GENETIC MARKER.

Rodero, A., M.R. de la Haba, D. Llanes y A. Moreno.

Departamento de Genética. Instituto de Zootecnia. CSIC. 14005 Córdoba. España.

<u>Palabras clave adicionales:</u> Ovejas. Polimorfismos bioquímicos. Distancias genéticas. <u>Aditional Keywords:</u> Sheep. Biochemical polymorphisms. Genetic distances.

Summary

The genetic evolution of 5 different populations of pure Spanish Merino, were studied using different blood markers: Haemoglobin (Hb), Transferrin (Tf), Prealbumine (Pr), Albumine (Al), Protein X (Pr X), Carbonic Anhidrase (CA), Arylesterase (Es) and Potassium (K).

The differences among the gene frecuencies in these lines were increased since 1976 to 1988. We found a genetic uniformity among lines, while this was non existent in the Merino breed around the world. A increase of inbreeding was found specially in transferrin.

Resumen

Se ha estudiado la evolución de las frecuencias genéticas de ocho marcadores sanguíneos: Hemoglobina (Hb), Transferrina (Tf), Prealbúmina (Pr), Albúmina (Al), Proteína X (Pr X), Anhidrasa Carbónica (CA) y Potasio (K), entre los años 1976 y 1988, en una población de ganado ovino de raza Merina.

Se ha producido un alejamiento entre las frecuencias génicas de los distintos lotes a través del tiempo, aumentando la uniformidad dentro de líneas, dando lugar al incremento de la homozigosis para determinados alelos de la transferrina.

Introducción

Aunque no está totalmente aclarado el origen del Merino español, parece ser que en su formación han intervenido, a partir del *Ovis aries vigney*, ganados de origen fenicio, cartaginés, turdetano, africano, y algunas razas europeas.

A partir del siglo XVIII esta raza española inició su salida a otros países, primero europeos y posteriormente americanos, australianos y africanos (Laguna, 1988). De las cabañas que destacaron por su influencia genética en el extranjero, todavía perduran algunas que se han conservado con alto grado de pureza. Dos de las más interesantes están representadas por las ganaderías de Hidalgo y Granda, ganaderías privadas localizadas en la provincia de Cáceres, cuyo estudio,

realizado en 1988, incluimos en este artículo.

Desde principios de los años sesenta el colectivo de ovejas de pura raza Merino español sufrió una gran reducción, provocada por el cruce con diversas razas extranjeras para mejorar otras producciones, debido al bajo precio de mercado de la lana.

Para prevenir esta situación de pérdida de pureza racial, la Administración concentró en 1971 cinco rebaños puros en el Depósito de Sementales Ovinos de Hinojosa del Duque (Córdoba).

En este artículo prentendemos estimar la evolución genética que esta población ha experimentado entre 1976 y 1988, calculando la variación de frecuencias entre subpoblaciones, distancias genéticas y variabilidad genética, a partir de las frecuencias génicas encontradas para varios polimorfismos en los dos años antes mecionados.

Material y Métodos

Los animales utilizados son de pura raza Merina y pertenecen a los cinco lotes de Hinojosa y a las ganaderías Hidalgo y Granda.

Los lotes de Hinojosa fueron creados en 1971 con animales de diferentes ganaderías de Merino español puro y se han mantenido aislados reproductivamente. El lote 1 fue creado fundamentalmente con 190 animales de la ganadería Hidalgo, el 2 con 69 ovejas procedentes de un rebaño de Trujillo (Cáceres). El número 3 se formó a partir de 256 animales de la ganadería Granda, el 4 con 124 individuos pro-

cedentes de distintas ganaderías de Cáceres y Ciudad Real y el número 5 se fundó con 272 animales de la ganadería del Conde de Perales. Los rebaños Hidalgo y Granda son considerados por la Asociación de Criadores de Merino como pura raza Merino español.

En el estudio realizado en 1976, se trabajó con 200 animales de cada uno de los lotes de Hinojosa, excepto el lote 2 que solo tenía 60 animales. En el año 1988 se estudiaron 50 individuos por lote, ademas de 46 animales de la ganadería Hidalgo y 45 de Granda.

Los sistemas polimórficos considerados han sido:

Hemoglobina: Huisman et al., (1958). Transferrina: Poulik (1957). Prealbúmina: Efremov et al., (1968). Albúmina: Efremov et al., (1968) Proteína 'X': Tucher et al., (1967) Anhidrasa carbónica: Tucher et al., (1967)

Arilesterasa: Tucher et al., (1967) Polimorfismo de potasio: fotometría de llama.

No todos los polimorfismos se pudieron analizar en todos los lotes.

Los métodos estadísticos usados para el cálculo de variaciones de frecuencias entre subpoblaciones (Nei e Imaizumi, 1966) se especifican con detalle a continuación:

Cualquier frecuencia que se estime a partir de una muestra de tamaño finito está sujeta a variaciones de muestreo. Es por tanto, conveniente desglosar las varianzas de las frecuencias verdaderas de las varianzas medias de muestreo.

Si la varianza de la frecuencia observada entre subpoblaciones es σ^2 qo, la varianza muestral media $\sigma^2 \delta q$ y la varianza de las frecuencias verdaderas σ^2 q, entonces σ^2 qo - $\sigma^2 \delta q$ = σ^2 q. El valor de σ^2 δq para una subpoblación se obtiene como σ^2 δq = $(1-q^2)$ / 4n, donde n es el número de individuos examinados.

Las varianzas de las frecuencias génicas se obtienen de la siguiente manera:

$$\sigma^2 po = \Sigma n (po - \bar{p}o)^2 / \Sigma n$$

donde

$$\bar{p}o = \frac{\sum pi^2}{K} - \bar{p}o^2$$

Nei (1965) ha demostrado que el grado de diferenciación entre subpoblaciones, medido por el coeficiente de endogamia (F), se puede obtener como $F = \sigma^2 q / (q - (1-q))$ donde q es la frecuencia génica media.

Resultados y dicusión

I) Análisis de las frecuencias génicas.

Las frecuencias génicas obtenidas para los sistemas estudiados se presentan en la tabla I.

Respecto al sistema transferrina, en todos los lotes estudiados salvo uno, el alelo más frecuente ha sido el D, lo cual coincide con los datos de la mayor parte de los trabajos referidos a las distintas variedades del merino.

Rasmusen y Tucker (1973) estudiaron las relaciones de los tipos de Tf

con la tasa de reproducción. En ese artículo los autores encontraron un exceso de animales de genotipo BD sobre lo esperado, que alteraba la situación de equilibrio en algunos casos.

En nuestros datos, los individuos observados y esperados de Tf BD, en el estudio de 1988, no presentan una desviación significativa del equilibrio.

<u>Variación de frecuencias entre subpoblaciones</u>. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla II.

Con algunas excepciones, parece que hay una cierta tendencia a que las frecuencias verdaderas sean mayores que las de muestreo, lo que indicaría que hay diferencias significativas de las frecuencias génicas entre lotes.

En los análisis realizados en 1976 se obtiene que los valores de F no son de gran magnitud y similares entre sí, lo que parece indicar que las diferencias entre las frecuencias génicas han ocurrido en gran parte debido al azar.

No ocurre lo mismo en la población de 1988, en la que el valor de F promedio casi dobla el obtenido en 1976, presentándose valores para los distintos lotes bastante diferenciados entre sí, lo que es manifestación de que en este año, y a partir de 1976, se ha producido un efecto diferente al del azar que determinaría una incidencia de la consanguinidad.

II) Distancias genéticas.

Se han estimado las distancias genéticas entre los 5 lotes, tanto en 1976 como en 1988, con los resultados que se exponen en la tabla III.

Igualmente se ha hecho para hallar

Tabla I. Frecuencias génicas de las líneas en 1976 y 1988. Número de animales entre paréntesis.

Alelos			Lineas	ineas en 1976				
		1	2	3	4		5	
		(200)	(60)	(200)	(200)		(200)	
$\mathbf{K}^{\mathbf{L}}$		0,885	1	0,896	1		0,909	
$\mathbf{K}^{\mathbf{h}}$		0,114	0	0,103	0		0,090	
$\mathbf{H}\mathbf{b}^{\mathbf{A}}$		0,429	0,320	0,308	0,416		0,296	
$_{\mathbf{Hb}^{\mathbf{B}}}$		0,571	0,680	0,692	0,584		0,704	
$\mathbf{Tf}^{\mathbf{A}}$		0,137	0,142	0,238	0,116		0,149	
Tf^{B}		0,152	0,089	0,164	0,167		0,166	
$\mathbf{Tf}^{\mathbf{C}}$		0,152	0,141	0,079	0,188		0,131	
$\mathbf{Tf}^{\mathbf{D}}$		0,5	0,562	0,466	0,464		0,423	
$\mathbf{Tf}^{\mathbf{E}}$		0,068	0,062	0,056	0,058		0,128	
$\mathbf{Tf}^{\mathbf{S}}$		0,010	0	0	0,007		0	
Al^S		0,983	0,976	0,983	1		1	
Al^F		0,017	0,024	0,017	0		0	
PrAlS		0,533	0,450	0,501	0,435		0,536	
$PrAl^{F}$		0,291	0,275	0,364	0,457		0,251	
$PrAl^{O}$	•	0,179	0,275	0,136	0,109		0,214	
Alelos			Líneas	en 1988		***************************************		
	1	2	3	4	5	Granda	Hidalgo	
	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(45)	(46)	
KL	0,859	1	1	0,859	0,859		***************************************	
k ^h	0,141	0	0	0,141	0,141	*******	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
$\mathbf{H}\mathbf{b}^{\mathbf{A}}$	0,368	0,274	0,410	0,432	0,298	0,318	0,152	
Hb^B	0,632	0,726	0,590	0,568	0,702	0,682	0,848	
$\mathbf{Tf}^{\mathbf{A}}$	0,127	0,065	0,148	0,167	0,113	0,488	0,151	
Tf^{B}	0,286	0,065	0,182	0,191	0,250	0,107	0,279	
$\mathbf{Tf}^{\mathbf{C}}$		0,355	0,080	0,143	0,125	0,048	0,035	
	0,100	0,000	0,000					
Tf^{D}	0,150 0,400			0,452			0,523	
Tf ^D Tf ^E	0,400	0,452 0,065	0,568 0,023	0,452 0,048	0,313 0,188	0,333 0,024	0,523 0,012	
		0,452	0,568		0,313	0,333		
$_{\mathrm{CA}^{\mathrm{S}}}^{\mathrm{Tf^{\mathrm{E}}}}$	0,400 0,032	0,452 0,065	0,568 0,023	0,048	0,313 0,188	0,333 0,024	0,012	
$\mathbf{Tf}^{\mathbf{E}}$	0,400 0,032 0,794 0,296	0,452 0,065 0,913	0,568 0,023 0,837	0,048 0,796	0,313 0,188 0,821	0,333 0,024 0,967	0,012 0,946	
Tf ^E CA ^S CA ^F	0,400 0,032 0,794	0,452 0,065 0,913 0,097	0,568 0,023 0,837 0,163	0,048 0,796 0,204	0,313 0,188 0,821 0,179	0,333 0,024 0,967 0,033	0,012 0,946 0,054	
Tf ^E CA ^S CA ^F EsA+	0,400 0,032 0,794 0,296 0,320	0,452 0,065 0,913 0,097 0,368	0,568 0,023 0,837 0,163 0,301	0,048 0,796 0,204 0,466	0,313 0,188 0,821 0,179 0,327	0,333 0,024 0,967 0,033 0,167	0,012 0,946 0,054 0,940	

1976	Varianza observada (σq ² 0)	Varianza de muestreo $\left(\sigma\delta { m q}^2 ight)$	Varianza $_{ m real} \ (\sigma { m q}^2)$	Coeficiente de endogamia (F)
$_{ m Hb}$ B	0,0100	0,0012	0,0088	0,0398
Tf^{D}	0,0166	0,0024	0,0142	0,0570
AlS	0,0004	0,0001	0,0003	0,0344
$PrAl^{S}$	0,0078	0,0063	0,0015	0,0061
				Media:0,0342
1988	Varianza	Varianza media	Varianza	Coeficiente
	observada	de muestreo	real	de endogamia
	(σq ² ο)	$(\sigma \delta q^2)$	(σq^2)	(F)
$_{ m Hb}{ m B}$	0,0044	0,0040	0,0004	0,0017
Tf^{D}	0,0111	0,0055	0,0056	0,0229
CAS	0,0344	0,0022	0,0322	0,1983
EsA-	0,0371	0,0042	0,0329	0,1381
	•	•	•	•

0,0034

Tabla II. Variación de frecuencias entre subpoblaciones.

la similitud entre las ganaderías originales, Hidalgo y Granda, y los lotes de Hinojosa a los que dieron lugar, los números 1 y 3, respectivamente.

0,0070

X

En todos los casos se han obtenido los valores de las distancias por el método del coseno, según Nei (1975).

En los dos años parece producirse una cierta desviación del lote número 5, si bien los valores del año 1988 superan a los de 1976, es decir se señala una tendencia a diferenciarse los distintos lotes, confirmándose los resultados obtenidos anteriormente.

Es de resaltar que las distancias genéticas entre las subpoblaciones 1 e Hidalgo así como 3 y Granda presentan una tendencia a ser relativamente elevado número de generaciones que han transcurrido desde que los lotes 1 y 3 se aislaron de los rebaños que los originaron, lo que podría indicar la fuerte influencia del tipo de estirpes frente a otros factores incidentes en la evolución genética.

0,0036

0,0174

Media:0,0767

III) Variabilidad genética.

La variabilidad genética dentro de poblaciones se puso de manifiesto también determinando la proporción esperada de heterocigosidad por individuo (H), que se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\overline{H} = 1 - \overline{\Sigma} \operatorname{qi}^2$$

Tabla III. Distancias genéticas entre líneas, calculadas por el método del coseno (Nei, 1975), en 1976 (parte superior) y 1988 (parte inferior).

Líneas	1	2	3	4	5		
1	. -	0,052	0,021	0,014	0,033		
2			0,045	0,038	0,046		
3			-	0,016	0,040		
4				_	0,035		
5					-		
			·				·
Líneas	1	2	3 3	. 4	5	Granda	Hidalgo

Líneas	1	2	3	4	5	Granda	Hidalgo
1		0,037	0,109	0,068	0,101	. •	0,088
2		<u> </u>	0,044	0,032	0,061		•••
3			•	0,096	0,128	0,060	-
4				· -	0,147	-	-
5						-	-

Donde qi era la frecuencia del iésimo alelo en un *locus* promediado sobre el total de *loci* examinados. Las tablas IV y V dan resultados para algunos sistemas.

La comparación de la heterocigosis de los dos años de control nos permite inferir el ΔF utilizando la expresión de Hanset (1962):

$$H_t = (1 - \Delta F)^{-t} 4$$

Teniendo en cuenta que la media del intervalo entre generaciones es de 2,5 años* y para t = 4, se obtiene un $\Delta F = 0,0074$, indicativo de que la consanguinidad está experimentando muy pequeño avance en la población total.

En la tabla número IV se observa que sólo en dos casos del año 1976 se dan unos resultados significativos de desviación sobre lo esperado, es decir que no pueden ser observadas ventajas estadísticamente significativas de heterocigotos, lo que indica que no podemos encontrar alguna evidencia de la existencia de sobredominancia en estos *loci*.

En los dos sistemas (Hb y PrA1) en los que se producen valores de χ^2 significativos, la desviación sobre lo esperado se produce en el sentido de que los individuos homocigotos se presentan en mayor número de lo previsto, lo que parece una caracterís-

^{*} Valor obtenido por $I=(I_f+I_m)$ / 2 $I_i=\Sigma \mbox{ (edad del animal x número de hijos nacidos en cada edad.)}$

EVOLUCION DE MERINO ESPAÑOL CON MARCADORES GENETICOS.

Tabla IV. Heterocigosis de los sistemas estudiados en la población de Hinojosa, en 1976 y 1988, y las líneas Hidalgo y Granda, en 1988.

		Población de Hi	nojosa en 1976					
Homocigotos Heterocigotos								
Sistema	Observados	Esperados	Observados	Esperados	χ^2			
Hb	433	468,24	410	374,76	5,87			
Tf	140	156,81	341	324,19	2,54			
Al	289	288,45	10	10,55	0,04			
PrAl	56	73,06	130	112,94	6,72			
		Población de Hi	nojosa en 1988					
	Homoc	igotos	Hetero	cigotos				
Sistema	Observados	Esperados	Observados	Esperados	χ^2			
Hb	92	93,40	121	119,60	0,04			
Tf	72	64,41	141	148,59	1,28			
CA	169	161,10	44	51,90	1,64			
	international and the second s	Línea Hidalgo (C	áceres) en 1988					
	Homoc	igotos	Heteroc	igotos				
Sistema	Observados	Esperados	Observados	Esperados	x ²			
Hb	36	34,20	10	11,86	0,61			
Tf	14	16,16	29	26,84	0,46			
Al	38	36,57	5	6,43	0,37			
CA	25	25,16	3	2,84	0,01			
		Línea Granda (C	áceres) en 1988		:			
	Homoc	igotos	Heteroci	gotos				
Sistema	Observados	Esperados	Observados	Esperados	χ^2			
Hb	28	24,91	16	19,01	0,88			
Tf	10	15,26	32	26,74	2,84			
Al	40	40,01	1	0,99	0,00			
		42,09						

tica bastante generalizada en la población del año 1976, lo cual no puede explicarse tampoco por efecto selectivo, ni natural, ni artificial.

Tabla V. Heterocigosis por línea y año.

Líneas	1976	1988
1	0,5201	0,4999
2	0,4870	0,4342
3	0,3955	0,4330
4	0,3847	0,4321
5	0,4204	0,456
	$\overline{H} = 0,4379$	$\overline{H} = 0,4511$
Hidalgo		.0,2871
Granda	500	0,3030
F = 0.0074		
	•	

Se ha creido de interés obtener el grado de heterocigosis para los sistemas Tf y Hb para cada lote en 1976 y 1988, teniendo en cuenta el carácter adaptativo que se adjudica a las citadas proteínas y sus posibles relaciones con la tasa reproductiva. Los resultados se exponen en la tabla VII.

Como puede observarse existe para la transferrina, en casi todos los lotes, una tendencia a disminuir el grado de heterocigosis, debido al hecho de que los animales se reproducen en lotes cerrados de pequeño tamaño, ya que la ventaja adaptativa de la homocigosis o heterocigosis parece depender de las circunstancias ambientales.

Si se considera que entre uno y otro año han transcurrido 4 generaciones de ovinos, la tasa generacional de incremento de la consanguinidad se ha elevado a un 3%, aproximadamente. Cuando el mismo análisis se lleva a cabo en el sistema de la Hb, los resultados no tienen el mismo significado que los de las transferrinas. Podría pensarse que se ha producido, por el contrario, un aumento de la heterocigosis, pero cuando se anulan los datos correspondientes al lote número 2 de pequeño tamaño, las dos heterocigosis medias, las del año 1976 y las de 1988 son estadísticamente iguales. Hay que tener en cuenta el fuerte carácter adaptativo de las transferrinas.

Del conjunto del trabajo podemos obtener las siguientes conclusiones:

1- En el transcurso de las generaciones de 1976 a 1988 se ha producido, independientemente del azar, una mayor diferenciación genética de los lotes como consecuencia de la acción del aislamiento y de la reproducción consanguínea, existiendo diferencias significativas de las frecuencias génicas.

2- Pudiera inferirse que las distancias genéticas entre lotes, reducidas en 1976, se han ido incrementando hasta el año 1988, en gran parte debido al distanciamiento del lote número 5. Sin embargo, hay que tener en cuenta que se han utilizado *loci* diferentes en los estudios de ambos años, por lo que no se puede realizar una afirmación categórica a este respecto. Por tanto, nuestros resultados deben ser considerados solo como indicativos de una tendencia a producirse un distanciamiento entre lotes.

Llama la atención la uniformidad genética, estimada por los marcadores utilizados, que se han encontrado en el total de las merinos españoles, de diferentes orígenes remotos y bastan-

Tabla VI. Tasa de heterocogosis para transferrina y hemoglobina en 1976 y 1988.

		Heteroo	cigosis de t	ransferrina		
			Lotes			
	1	2	3	4	. 5	media tota
1976	0,679	0,632	0,690	0,706	0,737	0,689
1988	0,74	0,5	0,575	0,67	0,545	0,606
% descenso	8,98	20,89	16,67	5,10	26,05	

		Heterocig	osis de Lotes	hemoglobina		
. 1	1	2	3	4	5	media total
1976	0,527	0,347	0,429	0,493	0,516	0,486
1988	0,513	0,545	0,587	0,472	0,452	0,514

tes aislados reproductivamente, cuando esta uniformidad se compara con
las elevadas divergencias que se aprecian en todo el mundo entre las distintas razas o variedades derivadas todas
ellas de este merino español. Esto nos
inclina a pensar que la formación de
los merinos extranjeros han intervenido, en la mayor parte de los casos,
otras razas distintas del merino español.

3- Aunque en el conjunto de sistemas polimórficos estudiados, la consanguinidad total ha experimentado un avance pequeño y no se pueden inferir ventajas significativas de la heterocigosis y por lo tanto presencia de sobredominancia en los diferentes *loci*,

en el caso concreto de las transferencias, sistema que puede dar alguna indicación sobre la adaptabilidad (Garzón, 1977), si se ha producido un incremento de la homocigosis dentro de lotes, con un aumento de consanguinidad total que se estima en un 3% por generación.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con cargo al proyecto de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica (CAICYT), C.S.I.C. 603/319. Asímismo queremos expresar nuestro agradecimiento al Centro de Selección y Reproducción Ovina de Hinojosa

y Reproducción Ovina de Hinojosa del Duque (Córdoba), a los Centros de Trujillo y Miajadas (Cáceres), y a la Junta de Andalucía por la ayuda concedida a los Grupos de Investigación.

Bibliografía

- Efremov, G., V. Vaskov and B. Harischo. 1968. Inherited variation in the prealbumins of sheep serum. XIth Europ. Conf. Anim. Blood Grps biochem. Polymorph.: 505-511.
- Garzón, R., J. Luque, D. Llanes, C. Povedano, A.Rodero, J.M. Rodero, M. Vallejo e I. Zarazaga. 1977. Fundamentos históricos y genéticos del Merino español. Publicaciones del Monte de Piedad y Caja de Ahorros de Córdoba. p. 145.
- Hanset, R. 1962. La Genetique des populations d'effectif reduit. II. Consanguinité et heterozygotic. Ann. Med. Vet., VI: 431-456.
- Huisman, T.H.J., G. van der Vliet, and T. Sebeus. 1958. Sheep haemoglobins. I. Some genetic and physiological aspects of two different haemoglobins in sheep. Nature, Lond., 182: 171-172.
- Laguna, E. 1988. Historia del Merino. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. pp. 221-223.
- Nei, M. and Y. Imaizumi. 1966. Genetic structure

- of human populations. I. Local differentiation of blood group frequencies. Heredity, 21: 9-36.
- Nei, M. 1965. Variation y covariation on gene frecuencies in subdivided populations. Evolution, 19: 256-258.
- Nei, M. 1975. Molecular Population Genetics and Evolution. Amsterdam: Morth Holland.
- Nozawa, K. 1970. Populations genetics of farm animals. II. Statistical analysis on the polimorphic populations of goat in southwestern island of Japan. Jap. J. Genet., 45: 45-47.
- Poulik, R.D. 1957. Starch gel electrophresis in a discontinous system of buffers. Nature, 180: 1477.
- Rasmusen, B.A. and E.M. Tucker. 1973. Transferrin types and reproduction in sheep. Anim. Bloop Grps biochem. Genet., 4: 207-220.
- Tucker, E.M., I. Suzuki and C. Stormont. 1967.

 Three new phenotypic sistem in the blood of sheep. Vox. Sang., 13: 246-262.