

## ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD EN POBLACIONES OVINAS ESPAÑOLAS

(VARIABILITY ANALYSIS IN SPANISH SHEEP BREED)

por

A. RODERO, R. GARZON y D. LLANES

Departamento de Genética. Sección de Grupos sanguíneos y polimorfismo bioquímico.

Instituto de zootecnia. Facultad de veterinaria. Universidad de Córdoba (Spain).

### *Resumen.*

Se realiza un análisis de la variabilidad de poblaciones ovinas españolas correspondientes a las doce razas o subrazas siguientes. merina, talaverana, manchega, segureña, castellana blanca, castellana negra, turolense, soriana, rasa aragonesa, churra, tensina y lacha. Los caracteres estudiados corresponden a los siguientes polimorfismos. albúmina, A-esterasas, leucilaminopeptidasas, hemoglobinas, transferrinas, amilasas y fosfatasas alcalinas.

En primer lugar se ha estudiado la heterocigosidad de cada polimorfismo y razas, así como los promedios obtenidos según Ayala.

Se observan diferencias respecto a la heterocigosidad, muy apreciables de un polimorfismo a otro, y muy leve de una población a otra. Se dan los porcentajes de loci-polimorfismos para cada población, con una media total de 29,17-25 p. 100.

La proporción media de población polimórfica por *locus* es igual a 75 p. 100 ó 70,83 p. 100, según el criterio que se aplique.

Posteriormente se ha realizado un análisis según los métodos de Cockerham (1973). Se obtuvieron los coeficientes de correlación  $F$ ,  $\Phi$  y  $f$ , para cada polimorfismo, e igualmente los valores de  $\chi^2$ , que prueban el significado de estos coeficientes.

A la vista de estos resultados se consideran los efectos de los distintos factores que actúan sobre la constitución genética de las poblaciones.

### *Summary.*

An analysis of genetic structure and of the heterozygosity percentages of several polymorphisms in different Spanish sheep breeds has been made in order to study the role that varying modifying factors play in the genetic make-up of each breed.

Recibido para publicación el 29-2-1980.

RODERO Y COL.: VARIABILIDAD EN POBLACIONES OVINAS ESPAÑOLAS.

Also Cockerham s (1973) analysis of the variance components, in allelic frequencies has been applied with the same end in mind.

Greater variability in the heterocigous percentages has been observed between the Merino breed flocks and others breeds. Hemoglobin, albumin, transferrin, A-esterase, and lap are the polymorphisms which have been studied.

The analysis of the factors that afect the correlations among alleles at different levels (consanguinity, selection, migration, variation in fertility, random reproduction,...) makes us infer that the sizes of the flocks play a more important role than the reproductive systems.

It can also be infered that the migration rate has to be between 0.001 and 0.01.

Para Kimura (1972) la uniformidad en los polimorfismos de las distintas razas es una señal para mantener su hipótesis y está causada por el comportamiento de la especie como una unidad evolutiva. Por el contrario, Ayala (1974) considera que la seleccion natural puede haber originado un alto porcentaje de polimorfismo entre y dentro de razas en respuesta a las condiciones del *hábitat*.

Si los neutralistas adjudican la causa del polimorfismo a la deriva genética, ésta tiene su efecto cuando no hay migración. La difusión de genes de colonias o poblaciones de ovinos, por nosotros estudiadas, se pueden considerar como poblaciones aisladas, ya que se ha procurado trabajar con rebaños de animales de la máxima pureza posible.

Si la hipótesis clásica fuera correcta, las diferencias entre poblaciones serían más profundas que según la teoría equilibrada. Habrá poca variación genética entre individuos dentro de poblaciones y la mayor parte será interpoblacional.

Mientras la selección natural opera diferente para cada *locus* y para cada alelo en un *locus*, los efectos del muestreo y migración son uniformes sobre todos los *loci* y alelos.

La homocigosidad es una prueba poderosa para comprobar las desviaciones de la neutralidad, en dirección de la ventaja o desventaja del heterocigoto. La alta frecuencia de heterocigotos es una indicación de alto polimorfismo.

Todo esto nos ha inducido a utilizar dos técnicas en nuestro análisis: 1.<sup>a</sup> Análisis de la estructura genética y de los porcentajes de heterocigotos en las distintas poblaciones que representan razas y rebaños dentro de razas para diferentes polimorfismos. 2.<sup>a</sup> Aplicación de la teoría de Cockerham (1973) al análisis de com-

RODERO Y COL.: VARIABILIDAD EN POBLACIONES OVINAS ESPAÑOLAS.

ponentes de las varianzas de las frecuencias génicas. Con ello se persigue clarificar las causas de la variabilidad en las poblaciones ovinas, estudiando el papel que juegan los diferentes factores modificadores de la constitución genética de cada población.

*Material y métodos.*

El número de muestras estudiadas ha sido 2.579. Estas muestras se han distribuido entre las distintas razas, del modo siguiente: merino, 800, talaverana, 149; manchega, 160; segureña, 117; castellana blanca, 149; castellana negra, 145; turo-lense, 99; soriana, 130; rasa aragonesa, 98; churra, 342; tensina, 204 y lacha, 186. Han sido por tanto 12 razas o subrazas las estudiadas.

Sistemas polimórficos investigados: albúmina, A-esterasa, lap, hemoglobina, transferrina, amilasas y fosfatasa alcalina.

Métodos de análisis electroforéticos:

Hemoglobinas	Huisman, T. H. J. (1965).
Albúminas	Efremov, G. y Braend M. (1965).
Transferrinas	Kristjansson, F. K. (1963).
A-esterasa.	Gahne, B. y Cornsson, M. (1970).
Amilasa.	Mazunder y Spooner (1970).
Lap.	Método original, basado en Shaw y Prasad (1970).
Fosfatasa alcalina.	Rendel y Stormont (1964).

De casi todos los métodos se han realizado modificaciones en un intento de una mejor adaptación de nuestro trabajo.

*Resultados y discusión.*

En primer lugar abordamos el estudio de la variabilidad de las poblaciones a través de la medida de heterocigotos.

Las proporciones obtenidas de heterocigotos en las distintas poblaciones, para los diferentes polimorfismos, fueron las indicadas en el cuadro I.

Se deducen diferencias muy apreciables de un polimorfismo a otro; si bien, dentro de cada uno de ellos, las desviaciones de una población a otra no son muy destacadas en general.

Así, en el caso de las transferrinas, son muy próximas las cifras de heterocigosis, quizás algo más baja en las poblaciones merinas. Las diferencias son mayores entre poblaciones de merino que entre distintas razas. Esto es interesante, porque piénsese que las poblaciones de merino se han mantenido ya durante varias generaciones sometidas a un mismo medio ambiente, mientras que las muestras raciales se han obtenido en lugares muy diferentes.

## RODERO Y COL.: VARIABILIDAD EN POBLACIONES OVINAS ESPAÑOLAS.

CUADRO I. Proporciones de heterocigotos obtenidas en las distintas poblaciones para los diferentes polimorfismos.

RAZAS	P O L I M O R F I S M O S				
	Esterasas	Transferrinas	Albúminas	Hemoglobinas	LAP
Talaverana . . . . .	0,4051	0,7264	0,1308	0,4996	0,1698
Manchega . . . . .	0,2061	0,8008	0	0,2454	0,4239
Segureña . . . . .	0,2378	0,7617	0,1826	0,1777	0,4933
Castellana blanca . . . . .	0,3605	0,7180	0	0,4739	0,1823
Castellana negra . . . . .	0,2516	0,7702	0,01370	0,2857	0,4946
Turolense . . . . .	0,2822	0,7213	0,02880	0,4065	0,495
Soriana . . . . .	0,2401	0,7171	0,0537	0,3471	0,4992
Rasa . . . . .	0,3063	0,7913	0,0200	0,3144	—
Churra ordeño . . . . .	0,4099	0,7164	0,0527	0,1149	0,4970
Churra tensina . . . . .	0,4107	0,7379	0,0114	0,2285	0,4723
Lacha . . . . .	0,1817	0,7832	0,0053	0,4233	0,3554
Merino (0) . . . . .	—	0,6486	0,1674	0,4992	—
Merino (1) . . . . .	0,4066	0,6815	0,0342	0,4900	0,3767
Merino (2) . . . . .	0,1092	0,6298	0,0482	0,4366	0,5
Merino (3) . . . . .	0,2115	0,6919	0,0343	0,4268	0,3982
Merino (4) . . . . .	0,3931	0,7048	0	0,4859	0,4555
Merino (5) . . . . .	0,2105	0,7366	0	0,2273	0,4234
Total . . . . .	0,3009	0,7076	0,0355	0,4549	0,4033

En el caso de la esterasa se repite este hecho, aunque las cifras que se barajan son netamente más bajas que las transferrínicas.

No es éste el comportamiento en los polimorfismos hemoglobínicos y de Lap. Con ligeras excepciones las cifras se aproximan bastante dentro de la raza merina y se diferencian más considerablemente entre las diferentes razas. A este respecto es de destacar que el de las hemoglobinas es probablemente el polimorfismo al que se le adjudica un sentido más adaptativo.

Comportamiento especial presenta la albúmina, con cifras que la aproximan al carácter monomórfico aunque en alguna ocasión presente cifras destacables, como alguna población de merino, las talaveranas y las segureñas.

Las heterocigosidades medias obtenidas, según Ayala, se señalan en el cuadro II.

Poca variabilidad se presenta en estos valores entre las distintas poblaciones, si bien vuelve a repetirse que, en todo caso, las diferencias son mayores entre las distintas poblaciones de la raza merina.

Los porcentajes de *loci* polimórficos para población, fueron los indicados en el cuadro II.

Se presentan dos alternativas, en algunos casos, según que el criterio para admitir como polimórfico sea del 95 ó 99 p. 100 de frecuencia alélica.

La proporción media de poblaciones polimórficas por *locus* es igual a 75 por 100 ó 70,83 p. 100, según el criterio que se aplique.

Respecto al análisis de Cockerham indicamos lo siguiente: Cockerham (1973) sugiere dar el valor 1 a un alelo y 10 a su alelo alternativo. Entonces, de estos valores se deducen las distintas situaciones métricas.

En nuestro caso, la jerarquización se ha realizado sobre 11 razas y la consideración posterior de grupos aislados de rebaños reproducidos separadamente y pertenecientes todos ellos a la población de merinos españoles.

Las correlaciones a que da lugar el análisis de componentes, son las correspondientes a: entre genes dentro de individuos,  $F \Delta$ , aquellas entre genes de diferentes individuos en la misma subpoblación; y,  $f$ , entre genes dentro de individuos dentro de la subpoblación.

Cuando tenemos en cuenta la diferencia de grupos separados se distingue  $\Theta_1$  como la correlación entre individuos dentro del mismo grupo, como  $\Theta_2$ ; la correlación de genes entre grupos en la misma subpoblación;  $f_1$ , entre genes dentro de individuos dentro de grupos; y  $f_2$ , entre genes de diferentes individuos dentro de grupos, dentro de subpoblaciones.

RODERO Y COL.: VARIABILIDAD EN POBLACIONES OVINAS ESPAÑOLAS.

CUADRO II. Heterocigosidades medias obtenidas en las distintas poblaciones para los diferentes polimorfismos.

R A Z A	MEDIAS OBTENIDAS*	Porcentajes de <i>loci</i> polimórficos**
Talaverana	0 3858	30 - 20
Manchega	0,3353	30
Segureña	0,3706	20
Castellana blanca	0,3470	30
Castellana negra	0,3632	30
Turolense	0,3866	30 - 20
Soriana	0,3715	30 - 20
Rasa	0,358	30 - 20
Churra ordeño	0,3582	30 - 20
Churra tensina	0,3722	30
Lancha	0,3593	30
Merino total	0,3805	30
Merino 0	0,4384	—
Merino 1	0,3978	—
Merino 2	0,3448	—
Merino 3	0,3526	—
Merino 4	0,4079	—
Merino 5	0,3196	—
Total	—	29,17 - 25,00

\* Heterocigosidades medias obtenidas, según Ayala (1).

\*\* Se presentan dos alternativas en algunos casos, según el criterio que para admitir como polimórfico apliquemos sea del 95 p. 100 ó 99 p. 100 de frecuencias alélicas.

Wahlund (1928) demostró, entre otras cosas, el papel que juega la varianza, debido a diferencias en las frecuencias génicas entre subpoblaciones, en la frecuencia genotípica total obtenida del "amalgamiento" de subpoblaciones.

Más interesante puede ser, quizás extender la subdivisión a grupos separados dentro de subpoblaciones, con lo que se introduce una fuente adicional de variación.

De los tres principales procedimientos de análisis: productos simétricos promediados, diferencia cuadrados simétricos promediados y análisis de la varianza, es este último el más familiar.

Se han considerado dos situaciones: el análisis ponderado y el no ponderado, aunque cuando las varianzas son pequeñas, el análisis ponderado es preferible.

Según Cockerham (3) sugiere, se han computado los valores de  $\chi^2$  que permiten conocer el significado de las estimaciones obtenidas.

Se ha extendido el análisis a un total de 2.146 animales que, como hemos indicado, se distribuyen en 11 razas y en 6 grupos aislados.

Los coeficientes de correlación obtenidos han sido los señalados en el cuadro IV.

Debemos tener en cuenta que el método empleado se adapta con bastante precisión al caso de pequeñas muestras y que es el hecho de tratar en paralelo el análisis de componentes de varianza y la parametrización de las correlaciones, lo que le confiere alguna ventaja.

Puede observarse en el cuadro IV que, en la totalidad de los polimorfismos, el componente principal es el correspondiente a dentro de individuos, que representa entre un 80 y 97 p. 100 del total.

Entre otras dos fuentes de variación, es la de subpoblaciones la que en ocasiones alcanza un valor significativo.

Los factores que afectan a las correlaciones son los ya conocidos: Consanguinidad, selección, migración, diferencia en fertilidad, reproducción al azar, diferencias en la frecuencia génica entre machos y hembras y mezclas de subdivisiones.

1.º Consanguinidad. En el caso de los genes neutrales hay que distinguir entre la consanguinidad producida por la deriva, que determina el valor  $f_t$  entre subpoblaciones y debido casi enteramente al tamaño finito de las mismas, y la consanguinidad dentro de subpoblaciones, representada por  $f$ , debida al sistema de reproducción seguido. Con reproducción al azar y sexo separado  $f_t = -1 / (2n_e - 1)$ ,  $n_e$  = tamaño efectivo de la subpoblación.

Hemos obtenido este valor  $f_t$  en cada raza y con cifras que oscilan entre 0,0045, para la ojalada turolense, y -0,0006 para la merina, cuando se considera reproducción al azar entre todos sus individuos; lo que no es real, por lo que en este caso hay que diferenciar los valores de  $f_t$ , en cada grupo separado. Por la expresión dada.

RODERO Y COL.: VARIABILIDAD EN POBLACIONES OVINAS ESPAÑOLAS.

N = 2.000

CUADRO III. Valores de *m* (tasa de migración) obtenida en los diferentes polimorfismos.

	ANVA (análisis varianza)	P. S. A. (producto simétrico promediado)	D. S. S. A. (diferencia cuadrados simétricos promediados)
Transferinas	<i>m</i> ≈ 0,0004	<i>m</i> ≈ 0,0005	<i>m</i> ≈ 0,0146
Hemoglobinas	<i>m</i> ≈ 0,0012	<i>m</i> ≈ 0,0007	<i>m</i> ≈ 0,0034
LAP	<i>m</i> ≈ 0,0032	<i>m</i> ≈ 0,0005	<i>m</i> ≈ 0,0012
Esterasas	<i>m</i> ≈ 0,0114	<i>m</i> ≈ 0,0214	<i>m</i> ≈ 0,0066
Albúminas	<i>m</i> ≈ 0,0069	<i>m</i> ≈ 0,00043	<i>m</i> ≈ 0,00085

CUADRO IV. Diferentes coeficientes de correlación para los polimorfismos estudiados.

	P. S. P. *			D. C. S. P. **			ANVA ***					
	F	Φ	f	F	Φ	f	F	Φ	f			
Albúminas	0,0366	0,2236	+0,2409	-0,2409	0,0288	0,1276	+0,1133	-0,1133	0,0046	0,0178	-0,0227	-0,0227
A-esterasa	0,1254	0,0058	0,1203	0,1203	0,1264	0,0186	0,1098	0,1098	0,1156	0,	0,1059	0,1059
Lap	0,0937	0,2074	+0,1437	-0,1437	0,0792	0,0961	-0,0187	0,0187	0,0396	0,0373	0,0024	0,0024
Hemoglobina	0,1754	0,1536	0,0258	0,0258	0,1601	0,0351	0,1295	0,1295	0,0997	0,0915	0,0091	0,0091
Transferina	0,0554	0,2167	+0,2059	-0,2052	0,0333	0,0157	0,0178	0,0178	0,0025	0,0356	-0,0344	-0,0344

\* Productos simétricos promediados. \*\* Diferencia cuadrados simétricos promediados. \*\*\* Análisis de varianza.

CUADRO V. Valores de  $\chi^2$  que dan el significado de los coeficientes de correlación.

	$\chi^2_1$	$\chi^2_2$	$\chi^2_3$	$\chi^2_4$	$\chi^2_5$
LAP	288,0401	0,0290 n. s.	11,0293 n. s.	136,4255	152364,5845
A. esterasas	193,7363	42,0912	127,0977	56,4965	126568,5055
Albúminas	180,4398	5,5088 n. s.	4,2068 n. s.	81,8700	22594,4518
Transferrinas	326,4525	20,1685 n. s.	40,0511 n. s.	147,7549	185929,3074

n. s. no significativo.

$f_t$  es ligeramente negativo. Si se evita la reproducción entre parientes, se haría más negativo y, por el contrario, si se cruzan entre sí individuos emparentados,  $f_t$  tiende a positivo. Sobre el total de la población, hemos obtenido un  $f_t$ , de este tipo, aunque ligeramente superior a lo anterior.

En casi todos los casos, a excepción de las esterasas, las  $f_t$  son inferiores a las  $\Phi$  esto indica que los tamaños de las subpoblaciones juegan un papel más importante que el sistema de reproducción. De todas formas, ésta también influye en el aumento de  $\Phi$ , si se tiene en cuenta el tamaño de la familia y los grupos separados.

Los valores de  $f$  son suficientemente elevados para expresar discrepancias entre los resultados obtenidos y los esperados según Hardy-Weinberg, favoreciendo la homocigosis.

2.º Selección. También en este caso se consideran dos posibilidades: una se refiere a las consecuencias a largo plazo de la selección con efecto sobre  $F$  y  $\Phi$  y no sobre  $f$  y la otra respecto a los efectos inmediatos que se reflejan en  $f$ . La primera reduce  $\Phi$ . Si hay interacción de selección y ambiente, diferentes genes se favorecen y la consecuencia es la diferencia entre sus poblaciones y aumentos de  $\Phi$ . En nuestro caso no debe desestimarse esta posibilidad, ya que los valores de  $\Phi$  son suficientemente elevados. La selección tiende, por otra parte, a hacer  $f$  negativa, lo que se produce en los casos de las transferrinas y albúminas.

3.º Diferencias de fertilidad y frecuencias génicas desiguales en machos y hembras, si se piensa que estos hechos pueden producirse como resultado de selección diferenciada, es preferible recurrir a la comparación de la frecuencia de ambos sexos, lo que se ha hecho en la raza merina en otro trabajo nuestro.

4.º Cruzamiento al azar. Contribuye positivamente a  $f$  pero para una información más completa requiere otro tipo de análisis, que es expuesto por el mismo Cockerham en otro trabajo.

5.º Migración. El efecto de la migración sería reducir  $F$  y  $\Phi$  respecto a lo esperado si no hubiese migración.

Varios autores se han ocupado de este tema (Wright, Malecot, Mayrama, etc.).

Un gameto emigrante por subpoblación y generación es suficiente para hacer que la población se conduzca como una unidad panmíctica, lo que produciría una considerable diferencia entre subpoblaciones y un  $\Phi$  ligeramente menor que un tercio. Un individuo emigrante por subpoblación y generación colocará  $\Phi$  en algo menos de 1/5.

Las cifras de  $\Phi$  obtenidas por nosotros, aunque varían según el método utilizado y según el polimorfismo de que se trate, son en casi todos los casos inferiores a 1/5, por lo que habría que admitir cifras algo mayores de inmigración.

RODERO Y COL.: VARIABILIDAD EN POBLACIONES OVINAS ESPAÑOLAS.

Utilizando la expresión adaptada de Maruyana  $\Phi \simeq 1/(1 + Nm)$ , en la que  $N$  es el tamaño de la subpoblación, y admitiendo que  $u \leq m$  y tanto uno como otro son infinitamente pequeños, las cifras de  $m$  que se obtendrían serían las que se expresan en el cuadro III.

Estos resultados no pueden llevar a admitir que las tasas de migración pudieran estar comprendidas entre 0,001 y 0,01. Se observa que las cifras difieren más por el método estadístico empleado que por el tipo de polimorfismo que se considera.

En todos los casos, la mayor proporción de la varianza total corresponde a la  $\sigma^2$ , o sea dentro de individuos, mientras que los otros dos componentes ( $\sigma^2_A$  y  $\sigma^2_D$ ) se reparten el resto, comprendido entre un 20 p. 100 y un 0,22 p. 100, según el método y polimorfismo de que se trate. Recordemos que  $\sigma^2_A$  nos expresa el efecto de subpoblación, y  $\sigma^2_B$ , el correspondiente a individuos.

Sobre los análisis realizados se han aplicado pruebas  $\chi^2$  (según Cockerham, 1973) para estimar el significado de los estadísticos obtenidos. Estas pruebas nos dieron los siguientes valores:

Hemoglobina.  $\chi^2_1 = 974,8571$ , significativo a un nivel de 99,9 p. 100 para 11 grados de libertad. Esta significación puede deberse a dos razones: un  $f_k \neq 0$  ó  $\Phi \neq 0$ .

Las pruebas para determinar si  $f_k = 0$  se obtienen por  $\chi^2_2$ , que resulta igual a 20,2230 (no significativo para 12 grados de libertad).

Para de la misma manera probar si  $\Phi = 0$  se obtiene el  $\chi^2_4$ , que resulta 365,5688 también significativo para 11 grados de libertad. Se pueden probar los  $f_K$  respecto a su media, mediante otra valoración de  $\chi^2_3$ , en este caso, que es una prueba de homogeneidad de varianza dentro de la subpoblación. Resulta igual a 30,0519, con 11 grados de libertad.

Por último probamos la hipótesis de  $f = 0$  ó  $F = 0$ , a través de  $\chi^2_5$  219,962 con 1 grado de libertad.

Para los otros polimorfismos los valores obtenidos son los expresados en el cuadro V.

*Bibliografía.*

1. Ayala, F. J. 1974.--Amer., Sci., 62, 692-701.
2. Ayala, F. J. y C. A. Campbell, 1974.--Ann. Rev. Ecol. Syst., 5, 115-138.
3. Cockerham, C. C. 1973.--Genetics, 74, 679-700.
4. Cockerham, C. C. 1973.--Genetics, 74, 701-712.
5. Crow, J. F. y M. Kimura, 1970.--An introduction to population genetics theory. Harper and Row, N. Y.