

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LA CABRA MURCIANO-GRANADINA CON MICROSATÉLITES

GENETIC CHARACTERISATION OF THE MURCIANO-GRANADINA GOAT WITH MICROSATELLITES

Martínez, A.M.¹, J.L. Vega-Pla², J.M. Lozano³, M.P. Carrera⁴, J.M. Acosta⁵ y A. Cabello⁶

¹Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. Edificio Gregor Mendel. Campus de Rabanales. 14071 Córdoba. España. E-mail: ib2mamaa@uco.es

²Laboratorio de Genética Molecular. Servicio de Cría Caballar. Carretera Madrid-Cádiz km 397. 14071 Córdoba. España. E-mail: jvegpla@oc.mde.es

³Asociación Nacional de Criadores de Caprino de Raza Murciano-Granadina. Caserío de San Pedro s/n. Albolote. Granada. España.

⁴Pdiz. Universidade Federal Da Paraíba. CCA- Areia- Paraíba- Brasil Cep 58390000. E-mail: marcoscarrera7@hotmail.com

⁵Departamento de Biotecnología. INIPRO. Fundación Canaria Instituto de Investigación y Ciencia de Pto. del Rosario. C/ Tenerife, 35. 35.600 Pto. del Rosario. Fuerteventura. España. E-mail: acostajm_l@yahoo.es

⁶Delegación de Turismo y Desarrollo Rural. Diputación de Córdoba. Carretera Madrid-Cádiz km 397. 14071 Córdoba. España.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Cabra Murciano-Granadina. Microsatélites. Probabilidad de exclusión.

ADDITIONAL KEYWORDS

Murciano-Granadina goat. Microsatellites. Exclusion probability.

RESUMEN

Se estudian 92 animales pertenecientes a la raza caprina Murciano-Granadina, mediante 22 marcadores microsatélites con objeto de caracterizar esta raza peninsular española. Se han empleado microsatélites recomendados por la FAO, por la ISAG (International Society of Animal Genetics) y por la bibliografía para este tipo de estudios. Los microsatélites se han amplificado mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y los fragmentos amplificados se han separado mediante electroforesis en un secuenciador automático ABI 377XL. En próximos estudios se establecerán las relaciones genéticas de esta raza con otras razas caprinas

españolas e iberoamericanas. Se ha llevado a cabo también la comprobación de paternidades y maternidades con estos microsatélites, lo que ha servido para establecer una batería de 10-12 microsatélites con una probabilidad de exclusión *a priori* superior al 99,9 p.100, que puede resultar muy útil para la realización de controles de filiación en esta raza caprina emblemática del sur de España.

SUMMARY

It have been studied 92 animals of the Mur-

Arch. Zootec. 54: 327-331. 2005.

CARACTERIZACIÓN DE LA CABRA MURCIANO-GRANADINA CON MICROSATÉLITES

ciano-Granadina caprine breed with 22 microsatellites in order to get the genetic characterisation of this Spanish breed. Ovine and bovine microsatellites recommended by FAO, ISAG and other authors in the bibliography have been used. These markers were amplified by mean of the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique and to get the size separation of the obtained fragments we have developed electrophoresis in polyacrylamide gel in an automatic sequencer ABI377XL. In future studies the genetic relationships between this breed and others Spanish and Latin-American caprine breeds will be established. The paternity and maternity have been checked with these microsatellites and this has been used to make a paternity panel with 10-12 markers and an a priori exclusion probability higher than 99,9 percent. This panel is useful to check paternity in this emblematic caprine breed from the South of Spain.

INTRODUCCIÓN

Actualmente tanto las cabras Granadinas como las cabras Murcianas, así como sus cruces, se inscriben en un único libro genealógico, el cual es gestionado por dos asociaciones de criadores: por un lado la Asociación Nacional de Criadores de Caprinos de Raza Granadina y por otro la Asociación de Criadores de Cabras Murcianas (ACRIMUR). Oficialmente ambas poblaciones se integran en una única raza llamada Murciano-Granadina, incluida como tal en el catálogo Oficial de Razas de Ganado de España. Esta gestión genética común por una parte ha producido efectos muy beneficiosos, como ha sido el reconocimiento internacional de la raza Murciano-Granadina, pero puede que la no discriminación de animales cruzados

entre ambas poblaciones esté produciendo un fenómeno de absorción de la cabra Granadina tradicional por parte de la cabra Murciana, algo que sería una pérdida de diversidad muy grave, especialmente para Andalucía que estaría perdiendo uno de sus recursos genéticos más emblemáticos.

Debido a la gran importancia que tiene esta raza caprina como la más representativa de España en el panorama internacional, son muchos los trabajos científicos que se han desarrollado sobre distintos aspectos productivos, reproductivos e incluso genéticos. Desgraciadamente, no existen estudios que se hayan centrado en el análisis de la diversidad genética intrarracial de la raza Murciano-Granadina, a pesar de que la propia FAO (DAD-IS 2003) advierte que es tan grave la pérdida de razas como la de variedades dentro de razas. Y esto es lo que puede estar aconteciendo con la población caprina Granadina, una desaparición progresiva y silenciosa por absorción con la cabra Murciana.

El primer objetivo de este trabajo es obtener el perfil genético, mediante un análisis de microsatélites del ADN, de las poblaciones de cabras Granadinas ajustadas al morfotipo tradicional, y que de acuerdo con los registros de la Asociación de Criadores, se han mantenido sin contacto genético con cabras Murcianas, así como el perfil de los animales Murcianos puros y de las poblaciones cruzadas entre ambas. El segundo es establecer un panel de microsatélites con una probabilidad de exclusión combinada *a priori* superior al 99,9 p.100, que puede resultar muy útil para realizar controles de filiación en esta raza caprina.

Archivos de zootecnia vol. 54, núm. 206-207, p. 328.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han extraído muestras de pelo o sangre de 92 animales pertenecientes a las siguientes poblaciones: 30 de Murciana, 45 de Granadina y 17 del cruce de las dos anteriores. El ADN de las muestras se ha extraído mediante el Kit BLOODCLEAN de Purificación de ADN (BIOTOOLS - Biotechnological & Medical Laboratories, S.A. Madrid, España), siguiendo las indicaciones del fabricante para este kit.

Se han estudiado los 22 microsatélites siguientes: BM8125, BM1818, BM1824, CSSM66, ILSTS011, INRA63, INRA23, SPS115, BM6506, ETH225, ETH10, INRA6, BM6526, HAUT27, CSRD247, MAF65, MAF209, OarFCB11, MM12, OarFCB304, BM1329 y CSRM60. Se han utilizado microsatélites de bovinos y ovinos en este trabajo, en función de que los microsatélites están muy bien conservados en especies próximas (Stallings *et al.*, 1991). Los microsatélites se amplifican mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) según la metodología de Martínez *et al.* (2000). Se diseñan varias reacciones múltiplex para reducir el número de reacciones y los costes de los experimentos. Para realizar la separación por tamaños de los fragmentos obtenidos mediante la PCR se someten estos a una electroforesis en gel de poliacrilamida en un secuenciador automático ABI 377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). El análisis de los fragmentos y la tipificación alélica se realiza mediante los programas informáticos Genescan Analisis 3.1.2 y Genotyper 2.5 respectivamente.

Se han calculado las frecuencias

alélicas y las heterocigosidades mediante el programa informático Genetix versión 4.01 (Belkhir, 1999). Se ha calculado el contenido de información polimórfica (PIC) mediante la fórmula propuesta por Botstein *et al.* (1980). Todos estos parámetros se han calculado considerando que todos los individuos pertenecen a una sola población.

Se han realizado controles de filiación de los animales de la población Granadina comparando los genotipos del hijo con los de sus progenitores. Para evaluar la utilidad de estos microsatélites para realizar controles de filiación en esta raza, se ha calculado la probabilidad de exclusión *a priori* (PE) de cada uno de ellos mediante la fórmula de Jamieson (1994), y la probabilidad de exclusión combinada *a priori* (PEC) para un conjunto de sistemas mediante la fórmula de Huguet (1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 22 microsatélites empleados, 21 han resultado polimórficos y 1 monomórfico (BM1824); se han encontrado entre 3 alelos para el ETH10 y el MAF209 y 17 para el CSSM66, con un número medio de alelos de 8,32. Este valor es superior al encontrado por otros autores como Jiménez-Gamero (2003) en esta misma raza, y Li *et al.* (2002) que encontró un número promedio de alelos de 6,90 en 12 razas de cabras autóctonas chinas.

La heterocigosidad media esperada ha sido 0,652, y la observada 0,598. Estos valores son también superiores a los encontrados por Saitbekova *et al.* (1999) en 9 razas caprinas suizas, e

CARACTERIZACIÓN DE LA CABRA MURCIANO-GRANADINA CON MICROSATÉLITES

inferiores a los encontrados por Yang *et al.* (1999) en 5 razas chinas, y por Ouafi *et al.* (2002) en razas marroquíes y francesas, pero inferiores a los hallados por Jiménez-Gamero (2003).

En la **tabla I** pueden verse los valores de PIC que indican qué marcadores son más informativos en estas poblaciones (valores superiores a 0,5), cuales son medianamente informativos (valores entre 0,25 y 0,5), y cuales son poco informativos (valores inferiores a 0,25). Tres microsatélites son muy poco informativos en esta raza (SPS115, ETH225 y MAF209), cuestión que se debería tener en cuenta en estudios posteriores de variabilidad genética de las poblaciones Murciana y Granadina. El resto de los marcadores utilizados son muy informativos y por tanto muy útiles en este tipo de estudios.

En la **tabla I** se detallan los valores de PE para cada marcador. A partir de estos datos se ha diseñado un panel de 12 microsatélites cuya probabilidad de exclusión combinada *a priori* (PEC) es 0,99999. Esto constituye una poderosa herramienta para controlar la genealogía de los animales pues a la hora de afrontar el proceso de mejora genética, el control de la genealogía es fundamental.

Aunque la mayoría de los microsatélites empleados son de bovino y algunos de ovino, a la vista de los resultados obtenidos se puede decir que estos marcadores son útiles para estudiar diversidad genética en poblaciones caprinas. De hecho diversos autores han utilizado también marcadores de otras especies para realizar estudios en poblaciones caprinas (Yang *et al.*, 1999; Saitbekoba *et al.*, 1999; Ouafi *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2002).

Tabla I. Microsatélites analizados, número de alelos obtenido, valores de heterocigosidad, de PE (probabilidad de exclusión *a priori*) y de PIC (contenido de información polimórfica) de cada uno de ellos. (Microsatellites analysed, alleles obtained number (NA), observed Heterozigosity (H), *a priori* exclusion probability (PE) and PIC values (Polimorphic Information Content) of each microsatellite).

| Locus | NA | H | PE | PIC | Locus | NA | H | PE | PIC |
|-----------|----|------|------|------|----------|----|------|------|------|
| INRA6 | 8 | 0,83 | 0,66 | 0,81 | CSRD247 | 8 | 0,73 | 0,51 | 0,69 |
| MM12 | 14 | 0,82 | 0,68 | 0,81 | HAUT27 | 8 | 0,73 | 0,50 | 0,68 |
| MAF65 | 10 | 0,83 | 0,67 | 0,81 | INRA63 | 5 | 0,72 | 0,47 | 0,67 |
| BM1818 | 11 | 0,82 | 0,64 | 0,80 | BM6526 | 13 | 0,69 | 0,50 | 0,67 |
| CSSM66 | 17 | 0,82 | 0,65 | 0,80 | ILSTS011 | 8 | 0,69 | 0,45 | 0,64 |
| OarFCB11 | 12 | 0,79 | 0,61 | 0,77 | CSRM60 | 7 | 0,82 | 0,79 | 0,64 |
| BM6506 | 9 | 0,79 | 0,60 | 0,76 | ETH10 | 3 | 0,56 | 0,27 | 0,47 |
| BM8125 | 7 | 0,77 | 0,58 | 0,74 | SPS115 | 4 | 0,27 | 0,13 | 0,25 |
| INRA23 | 10 | 0,77 | 0,58 | 0,74 | ETH225 | 5 | 0,20 | 0,10 | 0,19 |
| BM1329 | 9 | 0,77 | 0,57 | 0,74 | MAF209 | 3 | 0,17 | 0,08 | 0,16 |
| OarFCB304 | 11 | 0,76 | 0,57 | 0,74 | | | | | |

Archivos de zootecnia vol. 54, núm. 206-207, p. 330.

BIBLIOGRAFÍA

- Belkhir, K. 1999. Genetix: Logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions. CNRSUPR 9060.
- Botstein, D., R.L. White, H. Skolnick and R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*, 32: 314-331.
- Huguet, E., A. Carracedo y M. Gené. 1988. Capítulo 14. Valoración médico-legal de la paternidad. En: Introducción a la investigación biológica de la paternidad. Ed. Huguet, E., Carracedo, A. y Gené, M. y Promociones y Publicaciones Universitarias, S.A. Barcelona.
- Jamieson, A. 1994. The effectiveness of using co-dominant polymorphic allelic series for (1) checking pedigrees and (2) distinguishing full-sib pair members. *Animal Genetics*, 25: 37-44.
- Jiménez Gamero, I.C. 2003. Clonación de microsatélites en la especie caprina y su aplicación a test de paternidad. *Tesis Doctoral*. Universidad de Córdoba (España).
- Li, M., S. Zhao, C. Bian, H. Wang, H. Wei, B. Liu, M. Yu, B. Fana, L. Chen, M. Zhu, S. Li, T. Xiong and K. Li. 2002. Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite analysis. *Genet. Sel. Evol.*, 34: 729-744.
- Martínez, A.M., J.V. Delgado, A. Rodero and J.L. Vega-Pla. 2000. Genetic structure of the Iberian pig breed using microsatellites. *Animal Genetics*, 31: 295-301.
- Ouafi, A.T., J.M. Babilliot, C. Leroux and P. Martin. 2002. Genetic diversity of the two main Moroccan goat breeds: phylogenetic relationships with four breeds reared in France. *Small Ruminant Research*, 45: 225-233.
- Raymond, M. and F. Rousset. 1995. Genepop: populations genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal Heredity*, 86: 248-249.
- Saitbekoba, N., C. Gaillard, G. Obexer-Ruff and G. Dolf. 1999. Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis. *Animal Genetics*, 30: 36-41.
- Stallings, R.L., A.F. Ford, D. Nelson, D.C. Torney, C.E. Hildebrand and R.K. Moyzis. 1991. Evolution and distribution of (GT)_n repetitive sequences in mammalian genomes. *Genomics*, 10: 807-815.
- Yang, L., S.H. Zhao, K. Li, Z.Z. Peng and G.W. Montgomery. 1999. Determination of genetic relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers. *Animal Genetics*, 30: 452-455.

