

**ESTIMACIÓN DEL TAMAÑO
EFECTIVO DE LA POBLACIÓN DE
OVEJA DE RAZA XALDA DE
ASTURIAS MEDIANTE
INFORMACIÓN MOLECULAR**

J. Antonio Álvarez Sevilla

ACOX
Oviedo/Uviéu

Félix Goyache
SERIDA-Somío-Gijón

RESUMEN

Se han genotipado 285 muestras de individuos de raza Xalda, divididas en dos grupos cuyas fechas de nacimiento estaban separadas por más de una generación, con 21 microsatélites para evaluar la posibilidad de calcular el tamaño efectivo de la raza mediante información molecular. El tamaño efectivo calculado mediante desequilibrio de ligamiento fue, para cada grupo 88,3 y 70,4 mientras que el tamaño efectivo calculado mediante un método temporal fue de 37,2. La utilización de este tipo de estimas, combinada con una monitorización genealógica puede resultar de utilidad en momentos iniciales de un programa de conservación de recursos zoogenéticos como el de la raza Xalda.



INTRODUCCIÓN

La oveja Xalda (Álvarez Sevilla, 2001, 2004) es una raza oficialmente reconocida entre las de protección especial amparadas por Real Decreto 1662/1997, de 7 de noviembre, por el que se actualiza el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España. En 1992 se creó la Asociación de Criadores de Oveja Xalda de Asturias (ACOX), que gestiona el Libro Genealógico y promueve cuantas iniciativas parezcan necesarias para la conservación de este patrimonio genético asturiano.

El Libro Genealógico de la raza ovina Xalda incluye una información relevante a efectos del conocimiento de la estructura genética, política de apareamientos y representación de fundadores en la población (Goyache et al., 2003). Entre los parámetros genéticos cuya variación se puede estudiar mediante herramientas genealógicas destaca el tamaño efectivo de la población (N_e). Éste es un parámetro clave en conservación y genética de poblaciones por su relación con la inversa de los incrementos de consanguinidad, las pérdidas de variabilidad genética debidas a deriva genética y sus posibilidades de adaptación a cambios ambientales (Duchev et al., 2006; Falconer y McKay, 1996). Sin embargo, en pequeñas poblaciones con poca profundidad de pedigrí el cálculo de éste parámetro puede resultar impreciso o sesgado independientemente de que se calcule a partir del número de reproductores existentes y varianzas familiares (Hill, 1979) o a partir de diferentes estimas de consanguinidad (Gutiérrez et al., 2008).

En esas condiciones puede ser interesante, a efectos de un programa de conservación de recursos zoogenéticos, estimar el tamaño efectivo de una población a partir de información molecular. En la década de los 80 del siglo XX se desarrollaron diversos métodos para poder llevar a cabo este tipo de estimas, siendo los principales, aquellos fundamentados en desequilibrio de ligamiento (Hill, 1981) y los que utilizan la variación de las frecuencias alélicas entre muestreos separados por un número conocido de generaciones (Waples 1989).

El objetivo de este trabajo es evaluar la posibilidad de evaluar el tamaño efectivo de la raza ovina Xalda mediante información de marcadores moleculares de tipo microsatélite. Para ello se han obtenido a lo largo del tiempo muestras que deben proporcionar la imagen de la raza en dos momentos diferentes separados por más de un intervalo generacional.



MATERIAL Y MÉTODOS

Se dispuso de 285 muestras de individuos de raza Xalda divididas en dos grupos: el grupo 1 (G1) incluyó 143 individuos vivos en la primavera de 2000 y nacidos ese año o antes; el grupo 2 (G2) incluyó 142 individuos nacidos tras el 1 de enero 2001 y vivos en 2003. La diferencia media entre las fechas de nacimiento de los animales de los grupos 1 y 2 fue de, aproximadamente, 5 años, correspondientes a 1,7 generaciones (Goyache et al., 2003). Las muestras se genotiparon para 21 microsatélites (BM8125, BM6526, CP34, BM757, INRA006, BM6506, BM1818, FCB128, CSSM31, ILSTS011, McM53, RM006, ILSTS005, BM2504, BMS1948, BMS2626, BMS356, CSSM15, CSSM43,

LSCV29 y McMA26) en un secuenciador Applied Biosystems ABI310 y el software provisto por la misma compañía.

Se testó la representatividad de las muestras obtenidas respecto de los animales incluidos en el Libro genealógico de ACOXA. Para ello, mediante el uso del programa ENDOG (Gutiérrez y Goyache, 2005), se calculó el valor equivalente a generaciones discretas para cada individuo incluido en los dos grupos definidos. La Figura 1 muestra la distribución de los animales de cada grupo según la profundidad de su pedigrí. Puede apreciarse que prácticamente la mitad (47,6%) de los animales del grupo 1 pertenecen a la generación fundadora (0 equivalentes a generaciones discretas) mientras que casi la mitad de los animales (47,2%) del grupo 2 tenían 3 generaciones discretas en su pedigrí. Por lo tanto, los grupos definidos pueden considerarse representativos de los cambios genéticos producidos por deriva en la raza Xalda.

El tamaño efectivo se calculó mediante los siguientes métodos:

a) el método del desequilibrio de ligamiento (Hill 1981; Waples 1991) tal como está programado en el programa NeESTIMATOR v1.3 (Peel et al. 2004). Este método se fundamenta en la asunción de que en un sistema reproductivo en que los gametos se distribuyen al azar entre un pequeño número de cigotos se producen desviaciones de las frecuencias genotípicas y gaméticas esperadas, lo que se puede utilizar para estimar N_e . Así, $N_{e(D)}$ se puede calcular a partir de loci no ligados como $N_{e(D)} = 1/(3 \times (r^2 - 1/S))$, donde r es la correlación entre alelos y S es el tamaño muestral (Hill 1981; Waples 1991). El valor de r se calcula como $r = D/(p \times (1 - p) \times q + (1 - q))^{1/2}$, donde p y q son las frecuencias del alelo A en el locus 1 y el alelo B en el locus 2, respectivamente, y D es la medida de desequilibrio.

b) Un método temporal fundamentado en estadísticos F descrito por Waples (1989), tal como está programado en el programa NeESTIMATOR v1.3 (Peel et al. 2004), que estima la media armónica de N_e en el tiempo ($N_{e(T)}$) a partir de la variación de las frecuencias alélicas entre muestras obtenidas en diferentes momentos a partir de la misma población. Waples (1989) estimó el cambio de

$$\hat{F}_k = \frac{1}{A-1} \sum_{i=1}^A \frac{(x_i - y_i)^2}{(x_i + y_i)/2}$$

las frecuencias alélicas (F_k) como el número de alelos en un locus y x_i e y_i son la frecuencias del alelo i ésimo en la primera y la segunda muestras, respectivamente. F_k permite calcular $Ne_{(T)}$

como $Ne_{(T)} = \frac{T}{2[\hat{F}_k - 1/(2S_0) - 1/(2S_t)]}$, siendo T el número de generaciones entre las dos muestras y S_0 y S_t el número de individuos incluido en cada muestra.



RESULTADOS

La Tabla 1 proporciona los valores de tamaño efectivo calculado por medio del método de desequilibrio de ligamiento ($Ne_{(D)}$; Hill, 1981) en los dos grupos definidos en la raza Xalda. Estos valores fueron de 88,3 y 70,4 para, respectivamente los grupos 1 y 2. Aproximadamente dos generaciones más tarde el valor calculado de $Ne_{(D)}$ era un 20% menor del inicial.

Estos resultados contrastan en gran medida con el tamaño efectivo calculado mediante el método temporal descrito por Waples (1989). El valor de $Ne_{(T)}$ calculado en este trabajo fue de 37,2, que resulta ser un 53% del valor de $Ne_{(D)}$ calculado para el grupo 2 y el 42% de ese parámetro calculado para el grupo 1.

Tabla 1: Número de animales (N), y estimas de tamaño efectivo calculadas mediante el método de desequilibrio de ligamiento ($Ne_{(D)}$; Hill, 1981) en la raza Xalda.

	N	$Ne_{(D)}$
Grupo 1	143	88,3
Grupo 2	142	70,4

Figura 1: Número de animales incluidos en los grupos 1 (en azul) y 2 (en rojo) por equivalentes a generaciones discretas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El conjunto de datos testado en este trabajo para el cálculo de tamaños efectivos mediante información molecular puede considerarse representativo de la raza. La definición de dos grupos con una estructura genética marcadamente diferente (ver Figura 1) permite suponer que los cambios observados en las frecuencias alélicas de la raza dependen en gran medida de los efectos de la deriva genética consecuentes al muestreo de genes que se produce por la selección de reproductores de la siguiente generación y que ha sido previamente referenciada como la causa más importante de variabilidad

genética en la raza Xalda (Goyache et al., 2003; Álvarez et al., 2008). En todo caso, no es esperable que los animales que conforman los grupos 1 y 2 genotipados sean genéticamente independientes entre ellos (Waples, 1989, 1991), ya que en una población de censos tan reducidos como la de la raza Xalda no es esperable que, con la acumulación de genealogías, todos los apareamientos puedan realizarse entre animales no emparentados (Álvarez et al., 2008).

Las estimas de $Ne_{(D)}$ calculadas en este trabajo podrían considerarse valores razonables del tamaño efectivo de las poblaciones (grupos) estudiados. Los valores de $Ne_{(D)}$ obtenidos presentan una tendencia a decrecer con el tiempo que es compatible con la situación que debería poder evaluarse mediante información genealógica, por la simple acumulación de pedigrí y consanguinidad. Sin embargo, Los valores de $Ne_{(D)}$ deben interpretarse con precaución, ya que la información proveniente de desequilibrio de ligamiento proporciona una estimación de la población reproductora que produce la muestra analizada, lo que puede no ser equivalente al tamaño efectivo de los reproductores en una generación dada (Waples 2006). Esto, lógicamente, es de mayor importancia en especies en que cualquier muestreo temporal presenta individuos con solapamiento generacional, y las estimas obtenidas a partir de desequilibrio de ligamiento pueden no ser equivalentes al tamaño efectivo de la población total. Para testar este efecto se calculó $Ne_{(D)}$ utilizando todos los animales disponibles independientemente del grupo al que se hubieran asignado. El valor obtenido fue de 111,2 que resultó ser muy superior a los obtenidos previamente para G1 y G2.

La estimación de $Ne_{(T)}$ calculada en este trabajo puede considerarse exclusivamente como debida a los cambios genéticos producidos por deriva en la raza, ya que la estructura de los datos y el tiempo de separación entre muestreos puede considerarse adecuado. Waples y Yokota (2007) han evaluado el rendimiento de este tipo de metodologías temporales para el cálculo del tamaño efectivo de la población cuando se aplican a poblaciones con generaciones solapadas, como es el caso de la raza Xalda. En esas condiciones las estimas pueden estar sesgadas por el tiempo transcurrido entre

muestreos y la estructura de edad de los individuos incluidos en las muestras ya que los tamaños muestrales suelen ser menores, por razones operativas, que el tamaño efectivo de la población. En nuestro caso, el tamaño muestral de G1 y G2 supera con mucho la estima de $Ne_{(T)}$. por lo que las marcadas diferencias encontradas entre $Ne_{(T)}$ y los valores estimados de $Ne_{(D)}$. podrían deberse a una infraestima del valor de $Ne_{(T)}$. debido a la no utilización exclusiva de animales correspondientes a las últimas generaciones en G2.



La aplicación de metodologías para el cálculo del tamaño efectivo de una población utilizando información molecular puede ser de interés en situaciones como la de la raza Xalda, en que una población se encuentra inmersa en un programa de conservación, con escasos efectivos y todavía escasa profundidad de los pedigríes recogidos en el Libro Genealógico. Ninguno de los estimadores utilizados refleja con total precisión la situación esperable a partir de información genealógica. El uso de información basada en desequilibrio de

ligamiento presenta la ventaja de proporcionar estimas instantáneas de Ne que pueden ser utilizadas sin necesidad de esperar un tiempo para la repetición de un muestreo, pero los valores obtenidos pueden estar determinados, en buena medida, por el tamaño muestral. Por el contrario, los métodos temporales pueden ser poco informativos si no se espera tiempo suficiente para que aparezca una fuerte señal genética producida por deriva, ya que resulta imposible realizar muestreos consecutivos en animales no relacionados por parentesco.

La utilización de este tipo de estimas, combinada con una monitorización genealógica puede resultar de utilidad en momentos iniciales de un programa de conservación de recursos zoogenéticos como el de la raza Xalda.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera podido desarrollarse sin el total apoyo de los socios de ACOXA. Gracias al Área de Genética y Reproducción Animal del SERIDA por su apoyo en los análisis realizados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez Sevilla J.A.** 1999. Protohistoria y ganadería. En El Ganado vacuno del Tronco Castaño, pp.11-18, Imprenta Narcea S.L., Granda-Siero (Asturias).
- Álvarez Sevilla, A.** 2001. Les races autóctones del Principáu d'Asturies, pp.11-18, Fundación Belenos, 33007 Uviéu/Oviedo (Principau d'Asturies).
- Duchev Z., Distl O., Groeneveld E.** 2006. Early warning system for loss of diversity in European livestock breeds. *Archiv. Anim. Breed.*, 49: 521-531.
- Falconer, D.S., McKay, T.F.C.,** 1996. Introduction to Quantitative Genetics, Longman, Harlow

- Goyache, F., Gutiérrez, J.P., Fernández, I., Gómez, E., Álvarez, I. Díez, J., Royo, L.J.** 2003. Using pedigree information to monitor genetic variability of endangered populations: the Xalda sheep breed of Asturias as an example. *J. Anim. Breed. Genet.* 120: 95-103
- Gutiérrez, J.P., Goyache, F.,** 2005. A note on ENDOG: a computer program for analysing pedigree information. *J. Anim. Breed. Genet.*, 122: 172-176.
- Hill W.G.,** 1979. A note on effective population size with overlapping generations. *Genetics*, 92, 317-322.
- Hill, W.G.,** 1981. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. *Genet Res* 38:209-216.
- Peel, D., Ovenden, J.R., Peel, S.L.,** 2004. NEESTIMATOR: Software for Estimating Effective Population Size, Version 1.3. Queensland Government: Department of Primary Industries and Fisheries, Brisbane, Queensland.
- Waples, R.S,** 1989. A generalized approach for estimating effective population size from temporal changes in allele frequency. *Genetics*, 121, 379-391.
- Waples, R.S,** 1991. Genetic methods for estimating the effective size of Cetacean populations. Report of the International Whaling Commission Special Issue 13:279-300.
- Waples, R.S.,** 2006. A bias correction for estimates of effective population size based on linkage disequilibrium at unlinked gene loci. *Conservation Genetics* 7:167-184.
- Waples, R.S, Yokota, M.,** 2007. Temporal estimates of effective population size in species with overlapping generations. *Genetics*, 175, 219-233.