

POSICIONAMIENTO GENÉTICO DE LA RAZA EQUINA HISPANO-BRETÓN

GENETIC ANALYSIS OF THE HISPANO-BRETON HORSE BREED

Cortés O.^{1*}, Vega-Pla J.L.², Berrueto A.³, Chomon N.⁴, Oom M.M.⁵, Dunner S.¹, Delgado J.V.⁶,
Gama L.⁷, Ginja C.⁵, Jordana J.⁸, Landi V.^{6,9}, Luís C.^{5,10}, Martín-Burriel I.¹¹,
Martínez A.M.^{6,9}, Zaragoza P.¹¹, Cañón J.¹, BioHorse Consortium¹²

¹Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España. *ocortes@vet.ucm.es

²Laboratorio de Investigación Aplicada. Ministerio de Defensa. España.

³Consejería de Desarrollo Rural, Ganadería, Pesca y Biodiversidad. Santander. España.

⁴Centro de Selección y Reproducción Animal (CENSURA). Cantabria.

⁵CE3C – Centre for Ecology, Evolution and Environmental Changes, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, 1749-016 Lisboa, Portugal.

⁶Universidad de Córdoba, España.

⁷CIISA – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Portugal.

⁸Universidad Autónoma de Barcelona, España.

⁹Animal Breeding Consulting S.L. España.

¹⁰Centro Interuniversitário de História das Ciências e da Tecnologia, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Portugal.

¹¹Universidad de Zaragoza, España.

¹²BioHorse Consortium: <http://biohorse.jimdo.com/>

Keywords:

Hispano-Breton
horse breed
Genetic diversity
Genetic
relationship
Molecular markers
Iberian horse
breeds

Palabras clave:

Raza equina
Hispano-Breton
Diversidad
genética
Relaciones
genéticas
Marcadores
moleculares
Razas equinas
ibéricas

Abstract

The Hispano-Breton equine breed is located in the North of the Iberian Peninsula and currently is an endangered breed. In order to analyze the genetic variability of the Hispano-Breton horse breed and its genetic relationships with other horse breeds located in the Iberian Peninsula a total of 25 autosomal microsatellites have been analyzed in 30 samples of the Hispano-Breton horse breed and in an additional 20 horse breeds that represent a comprehensive sampling of current Iberian Peninsula horse breeds. The parameters of genetic diversity of the Hispano-Breton horse breed were in the upper range of the values estimated in all of the breeds analyzed. The average F_{ST} genetic distance of Hispano-Breton horse with respect to the other breeds was 0.06. It is remarkable that the average F_{ST} genetic distance among Hispano-Breton, Burguete and Pirinenc Català horse breeds was not significantly different from 0. The F_{IS} estimate in the Hispano-Breton did not indicate a significant deficit of heterozygotes. The dendrogram built from F_{ST} genetic distances among breeds and the correspondence analysis showed similar results. The Iberian Peninsula celtic horse breeds were grouped in a single cluster while the horse breeds with different degrees of Arab influence comprise a second cluster. The low census and corresponding genetic drift effect probably explain the isolation evidenced by the Sorraia and Retuertas horse breeds.

Resumen

La raza equina Hispano-Bretón está considerada como una raza autóctona en peligro de extinción. Se distribuye de forma mayoritaria en el norte de la Península y su uso productivo principal es la producción de carne. Con el objetivo de analizar la variabilidad genética y el posicionamiento genético de la raza equina Hispano-Bretón se analizaron 25 marcadores genéticos autosómicos de tipo microsatélite en 30 muestras aleatorias de la raza equina Hispano-Bretón proporcionadas por la Asociación de Criadores de Ganado Equino de Raza Hispano Bretón de Cantabria, junto a otras 20 razas equinas de la Península Ibérica. Los parámetros de diversidad genética estimados en la raza Hispano-Bretón se sitúan en el límite superior del rango obtenido en el conjunto de razas analizadas. La distancia F_{ST} promedio de esta raza con respecto al resto de razas equinas analizadas es

0,06. Cabe destacar la estrecha proximidad del Hispano-Bretón con las razas Burguete y Pirinenc Català, con una distancia F_{ST} no significativamente diferente de 0. El valor F_{IS} obtenido no muestra un déficit significativo de heterocigotos ($F_{IS}=0,02$). Los resultados del análisis factorial de correspondencias, así como el dendrograma de relaciones obtenido a partir de la matriz de distancias F_{ST} , muestran un mismo patrón. Las razas de origen celta de la Península Ibérica conforman un clúster claramente diferenciado, situándose la raza Hispano-Bretón muy próxima a las razas Burguete y Pirinenc Català. Las razas con influencia árabe forman un segundo clúster, y por último el Pura Sangre Inglés, el caballo de Retuertas y la raza Sorraia, aparecen claramente separadas entre sí y del resto de razas analizadas.

Introducción

En la Península Ibérica las razas de caballos se clasifican en dos grupos en función de su origen, los caballos de origen Celta, relacionados con los caballos celtas del norte de Europa, que se distribuyen fundamentalmente por el norte de la Península Ibérica, y los caballos con influencia árabe localizados fundamentalmente en el centro y sur de la Península Ibérica (Aparicio, 1944; Jordana & Parés, 1999). La formación de la raza Hispano-Bretón surge de la necesidad de obtener una raza equina pesada de conformación musculosa que ayudara en las labores del campo pero que a la vez fuera manejable, motivo por el cual se introdujeron caballos daneses, napolitanos y flamencos, y posteriormente, normandos y belgas. No obstante los resultados no fueron los buscados al obtenerse animales que no se adaptaban bien al campo español. En los años 30 del siglo XX el Servicio de Cría Caballar y Remonta del Ministerio de Defensa comienza la introducción de sementales de raza bretona en el norte de la Península Ibérica, inicialmente en Cataluña y posteriormente se extendió a toda la cornisa cantábrica, que se cruzaban con hembras locales (Alonso de la Varga, 2000). Estos animales mostraron una mayor adaptación al medio que las razas anteriormente introducidas por lo que fueron introduciéndose nuevos animales de sangre bretona con el objetivo de mejorar la raza hasta que en 1960 se reconoce oficialmente la raza equina Hispano-Breton. Actualmente la raza Hispano-Bretón está catalogada como raza en peligro de extinción según el catálogo oficial de razas de ganado de España (www.magrama.gob.es/). Geográficamente se distribuye por el norte de la Península Ibérica, fundamentalmente a lo largo de la cornisa cantábrica. En Cantabria existe un importante censo de esta raza, fundamentalmente en las zonas montañosas de los valles interiores. Aunque inicialmente esta raza se originó con un doble propósito de trabajo-carne, en la actualidad su uso en las labores de campo ha disminuido y su principal orientación productiva es la carne de potro, y en menor medida como caballos de picadores o el tiro deportivo.

Morfológicamente son animales voluminosos, de amplias masas musculares, con extremidades fuertes y bien aplomadas y una alzada a la cruz que varía de 145 a 154 centímetros. La capa mayoritaria es la alazana, castaña y negra y en menor medida la overa, ruana y torda. El sistema de explotación es extensivo en zonas de montaña aprovechando los pastos y en invierno se bajan a los valles con suplementación puntual a base de paja y heno. Su explotación suele ir asociada al vacuno de carne, en explotaciones familiares de pequeño tamaño. La cubrición se realiza generalmente con sementales de la misma raza, mediante monta natural. Los potros se destetan en invierno cuando bajan de la montaña.

El objetivo del presente trabajo es caracterizar genéticamente a la raza equina Hispano-Bretón con marcadores moleculares autosómicos de tipo microsatélite, y analizar su posicionamiento genético con un conjunto representativo de las razas equinas presentes en la Península Ibérica.

Material y métodos

Se han analizado un total de 30 muestras de la raza equina Hispano-Bretón, además de 972 muestras de 20 razas equinas representantes de lo que podría ser la actual cabaña equina de España y Portugal (Tabla I; Figura 1). La información molecular fue proporcionada por un conjunto de 25 microsatélites autosómicos: VHL20, HTG4, AHT4, HMS7, ASB2, ASB17, HMS6, AHT5, ASB23, HTG10, HMS3, LEX33, TKY287, TKY294, TKY297, TKY301, TKY312, TKY321, TKY325, TKY333, TKY337, TKY341, TKY343, TKY344 y TKY394. El cálculo de los principales parámetros de diversidad genética se realizó con los programas GENETIX (Belkhir et al., 2001) y FSTAT 2.9.3.2 (Goudet, 2001). La matriz de distancias F_{ST} se representó gráficamente mediante el algoritmo Neighbor-Joining. Se utilizó un análisis multivariante de correspondencia para representar en un sistema de dos ejes la posición relativa de las diferentes poblaciones incluidas en el estudio con el programa GENETIX 4.4 (Belkhir et al., 2001). La estructura genética se analizó mediante el software Structure (Pritchard et al., 2000) con un modelo de ancestro común que asume la existencia de mezclas entre las poblaciones, con un parámetro Dirichlet para el grado de mezcla de 1,0, con 50.000 ciclos para el período de inicial y 70.000

repeticiones MCMC. Se realizaron 20 repeticiones para cada uno de los diferentes valores de k (número de orígenes considerados *a priori*) y se eligió una de las ejecuciones de entre las que teniendo un valor de verosimilitud más reducido se repetía con mayor frecuencia la estructura del conjunto de poblaciones.

Resultados y discusión

Los resultados de heterocigosis esperada, observada, número medio de alelos por *locus* y nivel de subdivisión en las razas analizadas se muestran en la tabla I. El rango de valores de la heterocigosis observada en el conjunto de razas equinas varió entre 0,64 (Sorraia) y 0,81 (Monchino). En la raza equina Hispano-Bretón el valor de la heterocigosis observada es 0,77, lo que indica una mayor diversidad genética que la mostrada por la mayoría del resto de razas equinas analizadas. La diferencia entre la heterocigosis observada y esperada no resultó significativamente distinta de cero, por tanto no se evidencia un déficit significativo de heterocigotos en la raza equina Hispano-Bretón.

Tabla I. Nombre y acrónimo de las razas equinas analizadas, número de muestras (N), heterocigosis esperada y observada, número medio de alelos por locus (NMA) y F_{IS} de las razas equinas analizadas. (*Horse breeds names and acronyms, number of samples, observed and expected heterozygosities and F_{IS} values*)

Población	Acrónimo	N	He	Ho	NMA	F_{IS}
Árabe	ARA	60	0,68	0,65	6,32	0,03
Poni Asturcón	AST	31	0,73	0,70	6,81	0,04
Burguete	BUR	50	0,76	0,72	8,09	0,05
Caballo de Monte Gallego	GAL	40	0,75	0,73	7,76	0,02
Garrano	GAR	25	0,77	0,74	7,20	0,04
Hispano-Bretón	BRE	30	0,77	0,76	7,48	0,01
Hispano-Árabe	HIA	40	0,77	0,75	7,24	0,02
Jaca Navarra	JNV	28	0,77	0,74	8,00	0,03
Losino	LOS	58	0,75	0,76	8,04	-0,01
Lusitano	LUS	21	0,75	0,70	6,40	0,07
Mallorquín	MAL	48	0,74	0,76	7,16	-0,02
Marismeño	MAR	63	0,76	0,73	7,92	0,03
Menorquín	MEN	57	0,75	0,73	7,76	0,01
Monchino	MON	30	0,81	0,76	7,81	0,06
Pirinenc Català	CPC	41	0,74	0,69	7,84	0,07
Potoka	POT	24	0,77	0,77	7,52	-0,001
Pura Raza Español	PRE	60	0,74	0,71	7,64	0,03
Pura Sangre Inglés	PSI	60	0,73	0,72	5,72	0,02
Retuertas	RET	67	0,71	0,74	6,76	-0,03
Sorraia	SOR	23	0,64	0,62	4,48	0,03
Trotador Español	TRO	46	0,76	0,74	7,08	0,02
	21	902	0,74±0,02	0,73±0,01	7,2±1,7	0,03

Respecto a la subdivisión de las razas el cálculo de los estadísticos F de Wright, F_{IT} , F_{ST} y F_{IS} proporcionaron unos valores de 0,1 (0,09-0,11), 0,08 (0,075-0,086) y 0,02 (0,01-0,03) respectivamente (entre paréntesis los intervalos de confianza del 95%). Estos valores muestran un nivel de diferenciación moderado entre las razas equinas de la Península Ibérica. El grado de diferenciación genética se estimó mediante la distancia F_{ST} entre pares de razas y el promedio de cada raza con respecto al resto (Tabla II). Las razas Burguete, Pirinenc Català e Hispano-Bretón mostraron los valores de distancia genética más bajos, de 0 a 0,01. Estos resultados nos indican el escaso grado de diferenciación genética de las tres razas debido a su origen común con la introducción de sementales Bretones en el norte de la Península Ibérica a principios del siglo XX. El origen primitivo de la raza portuguesa Sorraia y el efecto de la deriva genética como consecuencia de su reducido censo explicaría su elevado valor (0,15) de la distancia genética F_{ST} promedio.

Tabla II. Matriz de distancias F_{ST} de las razas equinas analizadas. (F_{ST} distance matrix for the equine breeds analyzed)

	ARA	AST	BUR	GAL	GAR	BRE	HIA	JNV	LOS	LUS	MAL	MAR	MEN	MON	CPC	POT	PRE	PSI	RET	SOR	TRO
AST	0,13																				
BUR	0,12	0,10																			
GAL	0,13	0,06	0,04																		
GAR	0,10	0,07	0,06	0,07																	
BRE	0,12	0,09	0,00	0,03	0,05																
HIA	0,03	0,08	0,07	0,08	0,03	0,06															
JNV	0,11	0,10	0,01	0,04	0,05	0,02	0,06														
LOS	0,11	0,08	0,05	0,07	0,06	0,04	0,06	0,05													
LUS	0,10	0,07	0,08	0,08	0,02	0,06	0,03	0,07	0,07												
MAL	0,13	0,09	0,08	0,08	0,08	0,07	0,07	0,07	0,09	0,08											
MAR	0,06	0,06	0,05	0,03	0,03	0,04	0,02	0,04	0,04	0,02	0,05										
MEN	0,12	0,08	0,06	0,08	0,07	0,05	0,07	0,06	0,08	0,07	0,06	0,05									
MON	0,11	0,06	0,04	0,03	0,04	0,03	0,05	0,04	0,04	0,04	0,05	0,03	0,05								
CPC	0,12	0,10	0,01	0,08	0,08	0,01	0,08	0,03	0,08	0,09	0,09	0,04	0,08	0,04							
POT	0,11	0,08	0,05	0,06	0,04	0,04	0,06	0,04	0,06	0,06	0,08	0,04	0,07	0,03	0,07						
PRE	0,11	0,09	0,08	0,09	0,03	0,07	0,03	0,07	0,08	0,03	0,07	0,03	0,07	0,06	0,09	0,08					
PSI	0,12	0,13	0,12	0,12	0,09	0,11	0,08	0,11	0,11	0,08	0,11	0,07	0,11	0,08	0,13	0,10	0,10				
RET	0,12	0,11	0,08	0,09	0,08	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,09	0,06	0,09	0,07	0,11	0,09	0,07	0,13			
SOR	0,20	0,17	0,13	0,17	0,14	0,13	0,15	0,14	0,13	0,14	0,16	0,12	0,16	0,13	0,14	0,14	0,15	0,18	0,14		
TRO	0,12	0,10	0,09	0,09	0,07	0,07	0,07	0,07	0,09	0,07	0,07	0,05	0,08	0,05	0,10	0,07	0,08	0,07	0,10	0,15	
MEDIA	0,11	0,09	0,06	0,08	0,06	0,06	0,06	0,07	0,08	0,07	0,08	0,06	0,09	0,07	0,10	0,10	0,10	0,13	0,12	0,15	0,08

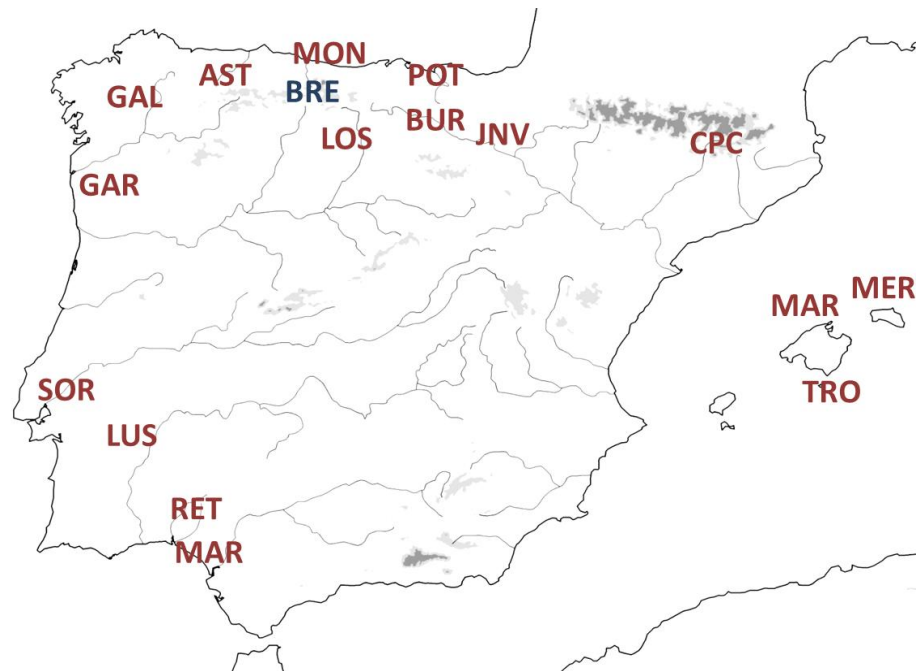


Figura 1. Localización geográfica de las razas equinas (*Equine horse breeds geographic location*)

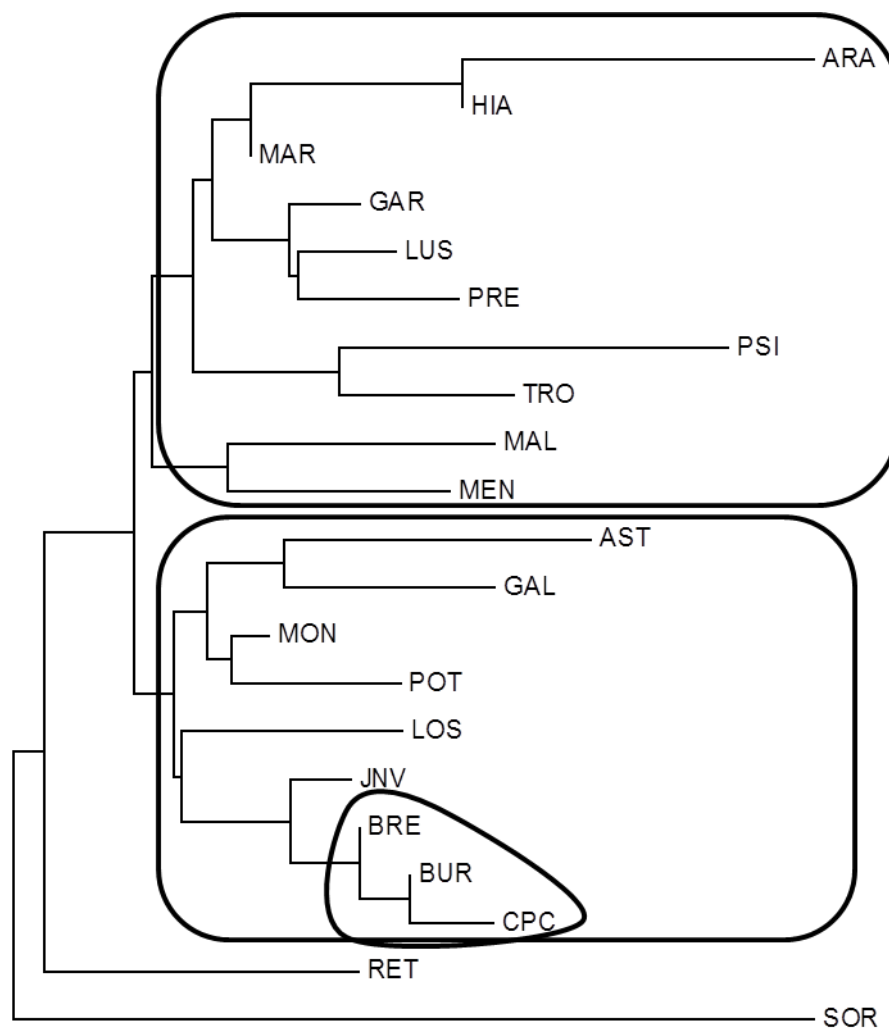


Figura 2. Dendrograma de la matriz de distancias genética F_{ST} (*Dendrogram of the F_{ST} genetic distance matrix*)

La representación gráfica de la matriz de distancias genéticas F_{ST} (figura 2) y el resultado del análisis multivariante de correspondencia (figura 3), separaron al conjunto de razas analizadas en dos grupos en función de su origen. El primer grupo estaría formado por las razas equinas de origen celta, incluido el Hispano-Bretón, y en el segundo grupo las razas con influencia árabe en diferente grado. En el dendrograma de la matriz de distancias genéticas F_{ST} , las razas Hispano-Bretón, Burguete y Pirinenc Català aparecen agrupadas en una rama como consecuencia de la escasa diferenciación genética entre ellas, todas proceden de los cruces de sementales Bretones importados a la Península Ibérica a principios del siglo XX con yeguas locales, como la Jaca Navarra, lo que justificaría la proximidad de esta raza. Por último las razas Sorraia y el caballo de Retuertas, dos razas muy antiguas que han permanecido aisladas durante siglos (Vega-Pla et al., 2006; Luís et al, 1997) aparecen en dos ramas claramente diferenciadas en el dendrograma de la matriz de distancias genéticas F_{ST} y en el análisis multivariante de correspondencia como consecuencia en gran medida de la deriva genética debido a su reducido censo y aislamiento reproductivo.

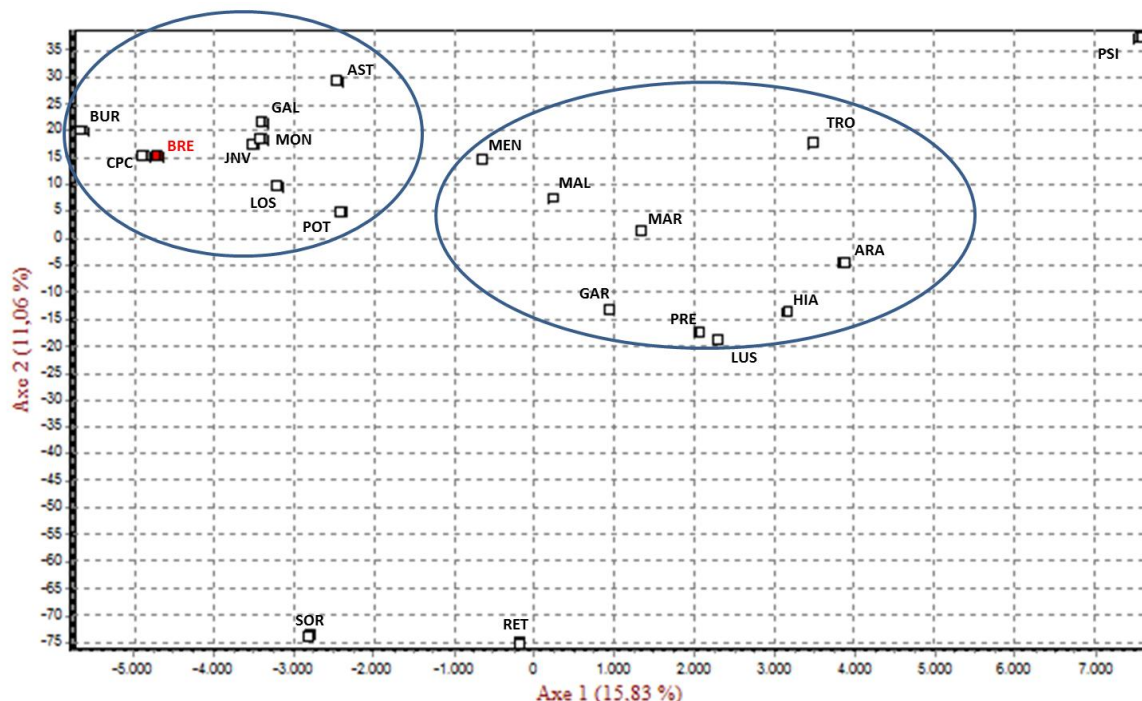


Figura 3. Análisis multivariante de correspondencia para los dos ejes de mayor inercia (*Correspondence analysis for the two axis with higher inertia.*)

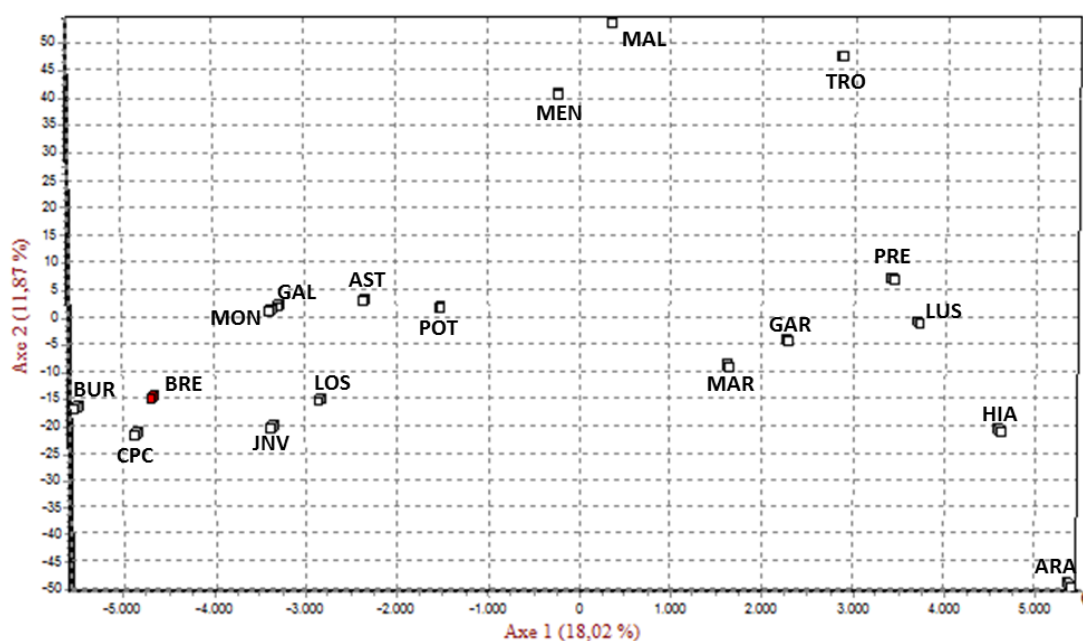


Figura 4. Análisis multivariante de correspondencia para los dos ejes de mayor inercia eliminando las razas PSI, Sorraia y caballo de Retuertas (*Correspondence analysis for the two axis with higher inertia without PSI, Sorraia and Caballo de retuertas horse breeds*))

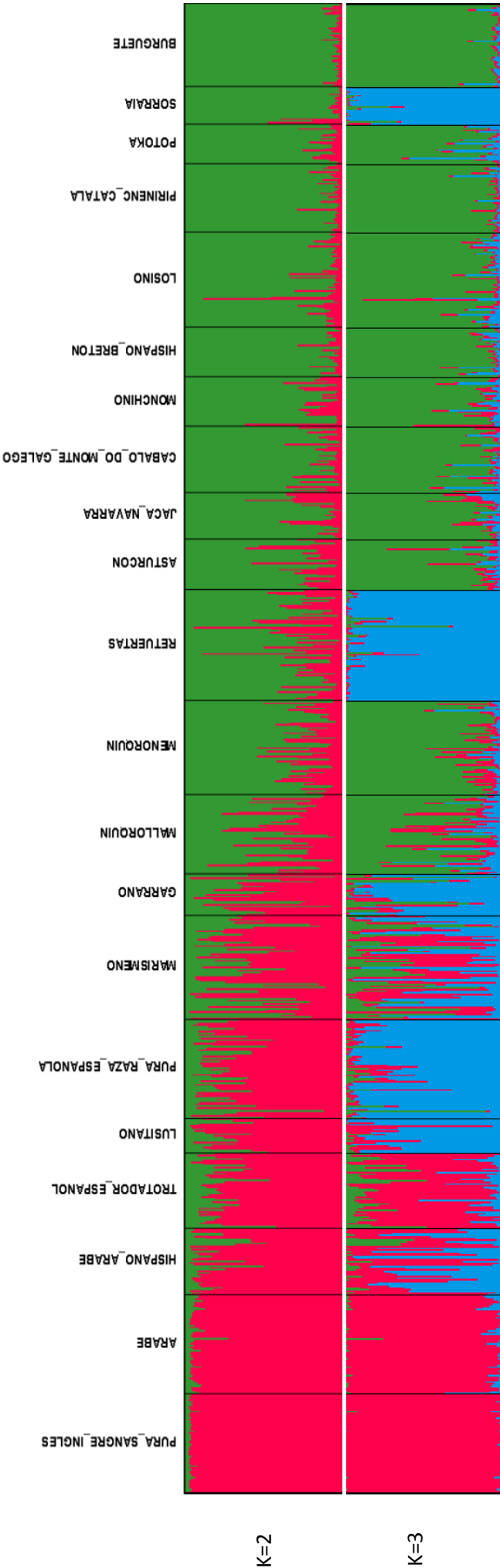


Figura 5. Representación gráfica de la estructura de la población considerando diferente número de orígenes genéticos hipotéticos (k=2 y 3). *(Graphic representation of the genetic structure of the equine horse breeds analyzed with different genetic origins (k=2, 3)).*

El caballo de Retuertas es una población que actualmente se localiza en libertad en el parque Nacional de Doñana y su aislamiento reproductivo con las razas domésticas de caballos ibéricas y su posible origen en las poblaciones salvajes de caballos de las marismas del Guadalquivir ya se ha mencionado en trabajos previos (Vega-Pla, 2006). En los resultados del nuevo análisis multivariante (figura 4) al eliminar las razas PSI, Sorraia y Caballo de Retuertas se aprecia como las razas insulares (Mallorquín, Menorquín y Trotador), se discriminan del resto de razas peninsulares por el segundo eje. El primer eje discriminaría las razas peninsulares de origen celta y de influencia árabe. Dentro del grupo de las razas celtas Hispano-Bretón, Burguete y Pirinenc Català aparecen de nuevo muy próximas entre sí.

Los resultados del análisis de la estructura genética mediante el software Structure corresponden a un modelo de ancestro común que asumió la existencia de mezclas entre las poblaciones. En la figura 5 se muestran los resultados considerando 2 y 3 poblaciones ancestrales. Los caballos de origen celta y de influencia árabe se separan cuando el número de poblaciones ancestrales definidos *a priori* es de 2, lo que correspondería con los dos orígenes genéticos definidos en la Península Ibérica. Cuando el número de poblaciones ancestrales es de 3, del grupo de razas de influencia árabe se separan el PRE y las razas equinas como el Hispano-Árabe, Lusitano, Sorraia o el caballo de Retuertas que han presentado orígenes comunes con el actual PRE, mientras que las razas de origen celta permanecen agrupadas en lo que sería el tercer origen.

Conclusiones

La variabilidad genética de la raza equina Hispano-Bretón se encuentra en el extremo superior del rango del resto de razas equinas de la Península Ibérica analizadas. La raza equina Hispano-Bretón se sitúa más próxima a las razas equinas celtas localizadas en la Península Ibérica, como corresponde a su origen. El origen común de las razas Hispano-Bretón, Burguete y Pirinenc Català resulta de la llegada de sementales Bretones y sus posteriores cruces con hembras locales a principios del siglo XX y justifica su escasa diferenciación genética y su relación genética con la Jaca Navarra.

Agradecimientos

Agradecemos a la Consejería de Desarrollo Rural, Ganadería, Pesca y Biodiversidad por la financiación parcial de este trabajo y al Centro de Selección y Reproducción Animal (CENSYRA) de Cantabria por la toma de muestras de la raza Hispano-Bretón como al resto de personal y Asociaciones que han facilitado las muestras del resto de razas equinas. Agradecemos al Consorcio BioHorse las labores de organización en la recogida de muestras y el acceso a las muestras analizadas en el presente trabajo.

Bibliografía

- Alonso de la Varga M. 2000. *El Caballo Hispano-Bretón. Capítulo III. Razas Equinas de Castilla y León*. Junta de Castilla y León, Consejería de Agricultura y Ganadería, Salamanca, España.
- Aparicio S.G. 1944. *Zootecnia Especial*. 4ª edición. Editorial S.E.V., Córdoba, 364 pp.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Goudet, J., Bonhomme, F., 2000. GENETIX, logiciel sous WindowsT M pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions CNRS UMR 5000. Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Goudet J. 1995. FSTAT Version 1.2: a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86, 178–179.
- Luis C., Cothran G. & Oom M.M. 2007. Inbreeding and genetic structure in the endangered Sorraia horse breed: Implications for its conservation and management. *Journal of Heredity* 98, 232-237.
- Jordana J. & Parés P.M. 1999. Relaciones genéticas entre razas ibéricas de caballos utilizando caracteres morfológicos (prototipos raciales). *Animal Genetic Resources* 26, 75-94.
- Pritchard .JK., Stephens M. & Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945–959.
- Vega-Pla J.L., Calderon, J., Rodríguez-Gallardo, P.P., Martínez A.M. & Rico, C. 2006. Saving feral horse populations: does it really matter? A case study of wild horses from Doñana National Park in southern Spain. *Animal Genetics* 37, 571-578.