ESTUDIOS GENETICOS EN EL CABALLO LOSINO. RESULTADOS INICIALES.

Rebeca García, M. Teresa Tejedor, M. Victoria Arruga y Luis V. Monteagudo.

Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular. Facultad de Veterinaria. C/ Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza.

INTRODUCCION

El caballo de Losa o losino forma parte , junto con el pottoka o poney vasco, el asturcón y el garrano o poney asturgalaico, de la llamada agrupación de poneys cántabro-pirenaicos. Todos ellos poseen unas características comunes: su primitivo origen (fusión del caballo prehistórico con los caballos domesticados celtas), pequeña alzada (no superior a1,4m) , colores negro o castaño oscuro y carácter silvestre, indómito e impetuoso. De todos ellos, el caballo losino es el que presenta efectivos más reducidos (sólo algunas decenas de ejemplares). Su distribución tradicional se centra en las cordilleras y valles altos de la provincia de Burgos : macizos de Castro Valnera y Nela, valles de Mena y de Losa (GARCIA DORY et al., 1990).

Con vistas a la caracterización genética del caballo Losino, este equipo está trabajando en la puesta a punto de una serie de técnicas laboratoriales para la identificación de la variabilidad genética de diversos loci protéicos y microsatélites. El presente trabajo muestra los primeros resultados de esta línea de estudio.

MATERIAL Y METODOS

Hasta el momento, se dispone de muestras de sangre de un total de 39 caballos losinos, pertenecientes a una misma explotación, situada en la provincia de Burgos. A partir de la sangre completa, se procedió a la separación del plasma y los eritrocitos, así como a la extracción del ADN, de acuerdo con la técnica de MONTGOMERY y SISE(1990). Las muestras de plasma, hemolizado y ADN se conservan congeladas hasta el momento de su análisis.

En esta primera fase de estudios, se consideraron cuatro loci de proteínas plasmáticas y un locus microsatélite. La electroforesis en gel discontínuo de poliacrilamida (JUNEJA et al., 1978; GAHNE y JUNEJA, 1978) permitió el análisis simultáneo de las variantes de tres loci de proteínas plasmáticas : Grupo complemento (*GC*), Alfa-1 beta glucoproteína (*A1B*) y Transferrina (*TF*) . La variabilidad de la proteína plasmática Albúmina (*AL*) se estudió mediante electroforesis en gel de almidón (KRISTJANSSON, 1963; KRISHNAMURTY et al., 1974).

Para el análisis de los microsatélites equinos (VHL20), la amplificación por PCR se realizó de acuerdo con las recomendaciones de los autores de las técnicas originales (VAN HAERINGEN et al., 1994). La identificación de los alelos se realizó mediante electroforesis en geles desnaturalizantes de poliacrilamida (8%), que contenían urea (8M). La visualización de los alelos se realizó mediante tinción con $AgNO_3$ (HEUSKESHOVEN y DERNICK,1985; BUDOWLE,1991).

Los estudios poblacionales se realizaron mediante el programa GENETIX (BELKHIR et al., 1996-1998), que permite, entre otras operaciones, el cálculo de frecuencias alélicas y la estimación de los índices de fijación F_{IS} , F_{IT} y F_{ST} de Wright (WRIGHT, 1965), así como el estudio de la signficación estadística de estos últimos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Hasta el momento actual, 27 de las muestra sindividuales disponibles han sido ya analizadas respecto a los cuatro loci considerados de proteínas plasmáticas. La tabla 1 muestra para cada uno de estos loci los alelos detectados, así como las frecuencias alélicas y sus correspondientes errores estándar. Los loci *GC*, *A1B* y *TF* mostraron valores de F_{IS} no significativamente diferentes de 0,por lo que puede admitirse la existencia de equilibrio genético de Hardy-Weimberg. Sin embargo, en el caso de *AL* se apreció un exceso significativo de heterocigotos (F_{IS}=-0,466, $p<0,05$). A fin de explicar esta circunstancia, se está procediendo al estudio de lo sdatos genealógicos disponibles en la explotación.

Considerando conjuntamente los cuatro loci de proteínas plasmáticas analizados, se estimó un valor global de F_{IS}=-0,132, que no resultó significativamente diferente de 0 ($p<0,05$). Así pues, no se han encontrado hasta el momento pruebas de una consanguinidad apreciable en la explotación considerada.

En el momento actual se encuentran en curso los análisis poblacionales referentes al microsatélite VHL20 considerando los 39 individuos disponibles. Por otro lado, se tiene previsto ampliar el número de loci proteicos y microsatélites considerados.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

BELKHIR, K., BORSA, P., GOUDET, J., CHIKHI, L. & BONHOMME,F. (1996-1998) GENETIX, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire du Génome et Populations, CNRS UPR 9060, Université de Montpellier II ,Montpellier(France).<http://www.univ_montp2.fr/~genetix.htm>

BUDOWLE , B.(1991) AMPFLPS-Genetic markers for forensisc identification. *Crime Laboratory Digest* **18**, 134-136.

GAHNE, B. & JUNEJA, R.K. (1978). Polymorphic post-albumin of cattle and horse plasma identified as vitamin D binding protein (Gc protein). *Anim. Blood Grps. biochem. Genet.*, **9**, 37-40.

GARCIA DORY, M.A., MARTINEZ VICENTE, S. & OROZCO PIÑAN,F. (1990). *Guía de campo de las razas autóctonas de España*. Alianza Editorial, S.A, Madrid, 170-172.

HEUSKESHOVEN, J. & DERNICK,R. (1985)Simplied method for silver staining of proteins in polyacrilamide gels and the mechanism of silver staining *Electroforesis* **6**, 103-112.

JUNEJA, R.K.; GAHNE, B. & SANDBERG, K. (1978). Geneticpolymorphism of the vitamin D binding protein and another post-albuminin horse serum. *Anim.Blood Grps. biochem. Genet.*, **9**,29-36.

KRISHNAMURTHY,U.S.; BHUVANAKUMAR, C.K. & RATHNASABAPATHY,V. (1974). Anew albumin type in Indian sheep. *Anim. Blood Grps. biochem.Genet.*, **5**, 125.

KRISTJANSSON, F.K. (1963). Genetic control of two prealbumins in pigs. *Genetics.* **48**, 1059-1063.

MONTGOMERY G.W., SISE J.A., 1990. Extraction of DNA from Sheep white blood cells. *NZ. J. Agr. Res.*, **33**, 437-443.

VAN HAERINGEN, H.; BOWLING, A.T.; STOTT, M.L.; LENSTRA, J.A. & ZAAGSTRA, K.A.(1994). A highly polymorphic horse microsatellite locus :VHL20. *Anim. Genet.* **25**, 207.

WRIGHT, S. (1965). The interpretation of populationstructure by F-statistics with special regard to systems of mating.*Evolution*, **19**, 395-420

TABLA 1: Frecuencias alélicas con su error estándar (e.e.) para los cuatro loci de proteínas plasmáticas consideradas.

Locus	Alelo	Frecuencia ± e.e.
AL	*AL*F*	0,611 ± 0,066
	*AL*S*	0,389 ± 0,066
GC	*GC*F*	0,278 ± 0,061
	*GC*S*	0,722 ± 0,061
A1B	*A1B *K*	0,889 ± 0,042
	*A1B *S*	0,111 ± 0,042
TF	*TF*D*	0,111 ± 0,043
	*TF*E*	0,093 ± 0,012
	*TF*F1*	0,018 ± 0,018
	*TF*F2*	0,686 ± 0,063
	*TF*F3*	0,018 ± 0,018
	*TF*O*	0,074 ± 0,036