VARIABILIDAD DEL ADN MITOCONDRIAL EN LAS POBLACIONES FUNDADORAS DE PONI ASTURCÓN

I. Álvarez[1], I. Fernández[1], D. García[2], M. Cuervo[3], L. Lorenzo[2], F. Goyache[1].
[1]SERIDA-Deva, C/ Camino de Rioseco 1225, 33394-Gijón (Asturias), e-mail: fgoyache@serida.org; [2]ACPRA, Centro Ecuestre El Asturcón 33194-Oviedo (Asturias); [3]SERPA S.A., C/ Luis Moya Blanco 26, E-33203, Gijón (Asturias).

INTRODUCCIÓN

La recuperación del poni Asturcón está bien documentada (García-Dory, 1980). Tras una grave recesión a mediados del siglo XX, la conservación de la raza se inició en los años 70 utilizando los animales de capa negra explotados en semi-libertad en la Sierra del Sueve (Oriente de Asturias). Esta iniciativa causó cierta controversia dado que históricamente se consideraba que el Asturcón tenía más frecuentemente capa castaña y se explotaba fundamentalmente en el Occidente de Asturias (García-Dory, 1980). El pequeño tamaño de la población inicial hizo necesario incorporar nuevas yeguas fundadoras durante los años 90 a partir de rebaños de las zonas bajas del Oriente asturiano y el área de los Picos de Europa. Finalmente, el número de yeguas fundadoras con descendencia en el Libro Genealógico del poni Asturcón fue de cincuenta 50 (Royo et al. 2007; Álvarez et al., et al., 2012).

Al inicio del siglo XXI, la asociación de criadores (ACPRA) incluyó en una nueva sección del Libro Genealógico unos centenares de animales de capa castaña (Royo et al., 2007; Álvarez et al. 2011). Sin embargo, la controversia sobre el programa de conservación continuó. Marcadores de ADN mitocondrial asignaron al poni Asturcón, de capa negra o castaña, a la familia haplotípica D de Jansen et al. (2002; Royo et al., 2005). Sin embargo, la variabilidad encontrada en el Asturcón de capa negra era mucho mayor que en la estirpe de capa castaña, sugiriendo que la estirpe de capa negra podría haber tenido una mayor influencia de razas equinas alóctonas. Recientemente, Álvarez et al. (2012) han analizado en profundidad la variabilidad genética materna del poni Asturcón de capa negra tanto en la población fundadora como en la población presente.

En esta comunicación se comparan los haplotipos de las 37 líneas maternas fundadoras analizadas por Álvarez et al. (2012) con 42 nuevas secuencias obtenidas de líneas fundadoras del poni Asturcón de capa castaña. Se pretende conocer si existen diferencias en la variabilidad del ADN mitocondrial en las poblaciones fundadoras de las dos estirpes de poni Asturcón y si esas posibles diferencias tienen relación con la estirpe o la geografía.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han obtenido muestras de sangre de 42 yeguas fundadoras de la sección de capa castaña del Libro Genealógico del poni Asturcón en 3 zonas geográficas aisladas entre sí: Sierra de La Bobia (13; concejos de Oscos, Vegadeo, Castropol, Illano, Boal y Coaña (northwestern Asturias); Sierra de Carondio (9; concejos de Allande, Tineo, Villayón, Valdés y Navia); y Sierra de El Aguión (20; concejos de Valdés, Salas y Cudillero). Las 37 líneas fundadoras del Asturcón de capa negra analizadas en Álvarez et al. (2012) se asignaron a las poblaciones fundadoras “Sueve” (26) y “no-Sueve” (11). La primera incluye las yeguas fundadoras recuperadas en la Sierra del Sueve en los primeros años 80 mientras que la segunda incluye las líneas fundadoras maternas recuperadas en zonas bajas del Oriente de Asturias y área de los Picos de Europa y registradas en los años 90.

Los trabajos de laboratorio y secuenciación se realizaron en la forma descrita en Álvarez et al. (2012) utilizando un secuenciador ABI 3130 DNA y sus programas de análisis. Las secuencias se alienaron usando el programa CLUSTAL incluido en el programa MEGA 5.03 (Tamura et al., 2007). Los análisis se restringieron a 380 bp y las posiciones nucleotídicas se numeraron de acuerdo con la secuencia de referencia X79547. Los haplotipos identificados se asignaron a los grupos definidos por Jansen et al. (2002). Los haplotipos no

identificados en Álvarez et al. (2012) se numeraron comenzando por el haplotipo (Hap) 16. Los análisis estadísticos y la estima de diversidad haplotípica (h) y nucelotídica (π) se realizaron utilizando el programa Arlequín 3.5 (Excoffier et al. 2010). Los análisis AMOVA se realizaron ajustando dos (población o estirpe) o tres (población dentro de estirpe) niveles jerárquicos. La confianza estadística de los valores obtenidos se estimó mediante permutaciones utilizando 1000 réplicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las 79 secuencias analizadas proporcionaron 16 haplotipos definidos por 33 sitios variables (Tabla 1; ver Álvarez et al. 2012 para más detalles). Aunque las dos estirpes de poni Asturcón sólo comparten 8 haplotipos, estos sumaron el 76% y el 81% de las muestras disponibles en ambas estirpes. La diversidad haplotípica y nucleotídica en la estirpe castaña (0,027 ± 0,006 y 0,021 ± 0,011, respectivamente) son ligeramente más altas que las de la estirpe negra (0,024 ± 0,005 y 0,016 ± 0,009, respectivamente). Los análisis AMOVA señalaron que la mayor parte de la variabilidad se debía a los individuos muestreados (entre el 96,4% y el 99,8% dependiendo del modelo ajustado). Sin embargo, ni la estirpe ni la población muestreada resultaron fuentes de explicación estadísticamente significativas de la variabilidad genética materna (valores Φ_{ST} de 0,037 y 0,018). El modelo de tres niveles jerárquicos no produjo resultados diferentes.

El ADN mitocondrial no permite la diferenciación de razas de caballos por la gran variabilidad presente en la especie debido a su compleja domesticación y su capacidad de movimiento (Jansen et al., 2002). La herencia del ADN mitocondrial es prácticamente uniparental y tiene un carácter estocástico que puede amplificarse por cuellos de botella locales. Sin embargo, la presente comunicación indica que a pesar del aislamiento reproductivo de las poblaciones analizadas y la acusada recesión de sus censos no se han producido procesos de deriva que permitan la diferenciación de las poblaciones.

Se puede concluir que no sería posible una diferenciación entre estirpes de poni Asturcón mediante marcadores de ADN mitocondrial. Las dos estirpes de poni Asturcón parecen provenir de la misma población ancestral de yeguas que, a su vez, tendría una composición genética materna representativa de una posible población ancestral de yeguas de la península ibérica (Royo et al. 2005).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Álvarez, I., Fernández, I., Lorenzo, L., Payeras, L., Cuervo, M., Goyache, F. 2012. J. Anim. Breed. Genet. 129: 271-279. • Álvarez, I., Royo, L.J., Pérez-Pardal, L., Fernández, I., Lorenzo, L., Goyache F. 2011. Livest. Sci. 135: 199-204. • Excoffier, L., Lischer H. E. L. 2010. Mol. Ecol. Res. 10: 564-567. • García-Dory, M. A. 1980. Asturcón. Caballo de los astures. Ediciones Caja de Ahorros de Asturias, Oviedo. • Jansen, T., P. Forster, M. A. Levine, H. Oelke, M. Hurles et al., 2002. PNAS 99: 10905-10910. • Pérez-Gutiérrez L. M., De la Peña A., Arana P. 2008. Anim. Genet. 39: 506–514. • Royo, L.J., Álvarez, I., Beja-Pereira, A., Molina, A., Fernández, I., Jordana, J., Gómez, E., Gutiérrez, J.P., Goyache, F. 2005. J. Hered. 96: 663-669. • Royo, L. J., Álvarez, I., Gutiérrez, J. P., Fernández, I., Goyache, F. 2007. Livest. Sci. 107: 162-169. • Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., Kumar, S., 2007. Mol. Biol. Evol. 24: 1596-1599.

Agradecimientos: Este trabajo se financió parcialmente mediante el proyecto MICINN-INIA RZ2008-00010**.** Los autores agradecen la colaboración de la asociación de criadores ACPRA (http://www.asturcones.com/).

Tabla 1. Frecuencias de los haplotipos identificados en cinco poblaciones fundadoras de poni Asturcón. Los haplotipos de Hap_16 a Hap_20 no se habían identificado en Álvarez et al. (2012). Se proporcionan, para cada población, los siguientes parámetros: número de muestras (*n*), número de haplotipos identificados (*k)*,) diversidad haplotífica (*h*) y diversidad nucleotídica (π). La abreviatura sd corresponde a la desviación estándar.

Haplo-		Poblaciones					
tipo	grupo	El Aguión	Carondio	La Bobia	Sueve	no-Sueve	Total
Hap_1	D_1	3	7	11	9	2	32
Hap_2	D_3	1				1	2
Hap_3	D_1				2		2
Hap_4	G				3		3
Hap_5	D_2	2		1		2	5
Hap_6	A_3		2	1	4	1	8
Hap_7	C_2	1		1	7	1	10
Hap_8	A_1		1		1	1	3
Hap_9	A_6					1	1
Hap_10	A_1		1			1	2
Hap_11	C_1					1	1
Hap_16	A_1			2			2
Hap_17	-			1			1
Hap_18	A_5	1	1	3			5
Hap_19	D_1		1				1
Hap_20	A_7	1					1
n		9	13	20	26	11	79
k		6	6	7	6	9	16
h		0.111	0.077	0.050	0.039	0.091	0.013
$sd_{(h)}$		0.052	0.030	0.016	0.011	0.039	0.002
π		0.016	0.017	0.016	0.02	0.024	0.019
$sd_{(\pi)}$		0.010	0.010	0.009	0.011	0.013	0.010

MITOCHONDRIAL DNA VARIABILITY IN THE FOUNDER POPULATIONS OF THE ASTURCÓN PONY

ABSTRACT: A 380 bp fragment of the horse D-loop region was analysed in 42 founder mare samples of the bay-coated Asturcón pony obtained in three different, isolated and mountainous areas: branch of “La Bobia” (13), branch of “Carondio” (9) and branch of “El Aguión” (20). These sequences were compared with the information provided by 37 founder matrilines of black-coated Asturcón assigned to the “Sueve” (26) and the “out-of-Sueve” (11) founder populations. The aim of this note was to ascertain the differences in founder mtDNA diversity between the two strains of the Asturcón pony and if such differences have geographical consistency. Both haplotypic (0.027 ± 0.006) and nucleotide (0.021 ± 0.011) diversity were higher in bay-coated than in black-coated Asturcón (0.024 ± 0.005 and 0.016 ± 0.009, respectively). AMOVA analyses failed in assessing any statistically differentiation among Asturcón geographical populations or strains. Differentiation among strains or population took low and non-significant values (Φ_{ST} of 0.037 and 0.018, respectively). Differentiation between Asturcón pony strains using mtDNA marker would not have clear support. The two strains of the Asturcón pony breed likely derive from the same ancestral mare population.

Keywords**:** *D-loop, Genetic variability, Asturcón, Founders*