

# TASA DE HETEROZIGOSIS EN POBLACIONES OVINAS

Por J. G. Ordas y  
F. San Primitivo

## INTRODUCCION

Las poblaciones ovinas de razas autóctonas son, generalmente, de tamaño reducido en nuestro país. Esta situación, junto al desequilibrio numérico entre machos y hembras (una media de 30 hembras por macho según el Anuario de Estadísticas Agrarias de 1982) y a una cierta presión de selección masal frente a ovejas malas productoras o fenotípicamente distanciadas del prototipo racial, hace que se trate de poblaciones sometidas, desde el punto de vista teórico, a condiciones favorables para el incremento de la consanguinidad.

En la mayoría de los casos, estas poblaciones no cuentan con registros genealógicos adecuados que permitan estimar los coeficientes de consanguinidad de forma directa. Sin embargo, la oveja doméstica muestra polimorfismo para varias proteínas y enzimas sanguíneas<sup>1, 2, 9, 14, 15</sup>. A partir de los datos suministrados por estas proteínas y enzimas sanguíneas, no sometidas a selección artificial, podemos realizar estimaciones de la variabilidad genética que permitan evaluar, de forma indirecta, el efecto de la consanguinidad sobre el aumento de homocigotos.

A efectos prácticos, un locus se considera polimórfico si la frecuencia del alelo más común es menor o igual que 0,99. Esto implica que la proporción de individuos heterocigóticos es igual o mayor del 2%<sup>7</sup>. Es obvio que la definición anterior es arbitraria e imprecisa y por ello la cuantificación de la variabilidad genética se estima por otros parámetros diferentes. Entre estos, el más utilizado es el promedio de heterocigosis por locus, acompañado de una medida de dispersión.

El objetivo fundamental de este trabajo ha sido cuantificar, mediante polimorfismos bioquímicos, la tasa de heterocigosis existente en poblaciones ovinas autóctonas de aptitud lechera: Churra, Lacha y Manchega, para su posible utilización práctica como estudio indirecto del efecto de la consanguinidad.

## MATERIAL Y METODOS

Se analizan once poblaciones ovinas autóctonas: 4 de Churra (1CH, 2CH, 3CH y 4CH), 4 de Lacha (1L, 2L, 3L y 4L) y 3 de Manchega (1M, 2M y 3M). En total se

---

*In. Fac. Vet. León*, 1984, 30, 111-118.

utilizaron 1.143 muestras sanguíneas: 458 de Churra, 349 de Lacha y 336 de Manchega. Las muestras se tipificaron mediante electroforesis en gel de almidón, para ocho sistemas genéticos: anhidrasa carbónica (CA), hemoglobina (Hb), NADH-Diaforasa (Dia), proteína X (X), purina nucleosido fosforilasa (NP), albúmina (Al), esterasa (EsA) y transferrina (Tf).

Los métodos electroforéticos empleados han sido los siguientes: CA, EsA y X (TUCKER et al.<sup>16</sup>); Hb (SAN PRIMITIVO<sup>13</sup>); Dia (CEPICA y STRAILL<sup>4</sup>); NP (TUCKER y YOUNG<sup>17</sup>); Al y Tf (EFREMOV y BRAEND<sup>6</sup>).

Las estimaciones de la tasa de heterozigosis, número efectivo de alelos y la prueba de la ventaja de los heterozigotos, se efectuaron según los métodos descritos por NEI y ROYCHODHURY<sup>11</sup> y NOZAWA et al.<sup>12</sup>.

El promedio de heterozigosis por locus se define, teóricamente, como la media de la heterozigosis de todos los loci estructurales del genoma<sup>10</sup>. Es virtualmente imposible estudiar todos los genes de una población dada y por consiguiente H se estima examinando un cierto número de individuos y de loci. Es decir, la estimación de H conlleva dos tipos de muestreo: de individuos de la población y de loci del genoma.

La estimación de la variación génica en las once poblaciones analizadas ha estado basada en el estudio de un número alto de individuos (según LUCOTTE<sup>8</sup>, 50 es un número suficiente), lo cual implica que las desviaciones debidas al tamaño de la muestra poblacional pueden considerarse insignificantes. Asimismo, la estimación se ha realizado sobre proteínas y enzimas diferentes, lo que permite eliminar las desviaciones producidas por el hecho de que la variabilidad no es idéntica en las diferentes clases funcionales de proteínas y enzimas<sup>8</sup>. Sin embargo, el número de loci utilizados para calcular el grado de heterozigosidad es relativamente bajo y la mayoría polimórficos en las poblaciones estudiadas.

NEI<sup>10</sup> señala que para realizar estimaciones de la heterozigosidad del total del genoma deberían utilizarse, idealmente, más de 50 loci. En la práctica, dificultades técnicas y económicas limitan a menudo el número de loci estudiados, habiéndose realizado la mayor parte de las investigaciones con menos de 30 loci.

Agréguese a esto que las técnicas electroforéticas infravaloran la cantidad de variabilidad genética, dado que no toda sustitución de aminoácidos se traduce en un cambio de la movilidad electroforética. Señalemos en este sentido que BERNSTEIN et al.<sup>3</sup> detectaron, mediante técnicas de desnaturalización por el calor, una variabilidad 1,74 veces mayor que la mostrada por electroforesis en un locus particular de *D. virilis*.

En base a lo expuesto anteriormente, las estimaciones de H realizadas, deben contemplarse como indicadores de la variación génica existente en las poblaciones ovinas y loci muestreados. No pretendemos extrapolar nuestros resultados a una población o raza en particular en el sentido de considerarlos como el verdadero grado de la variabilidad genética poblacional. Como señalan DOBZHANSKY et al.<sup>5</sup>, «se ha de emitir cierta nota de precaución», dado que el número de loci muestreados puede representar menos del uno por mil de los genes estructurales del genoma.

TABLE I

LOCI	ALELOS	1 CH (101)*	2 CH (151)	3 CH (102)	4 CH (104)	CHURRA (458)	1 L (99)	2 L (101)	3 L (50)	4 L (99)	LACHA (349)	1 M (100)	2 M (109)	3 M (127)	MANCH. (336)
CA	CA-F	0,015	0,053	—	0,010	0,023	—	—	—	—	—	0,020	0,037	0,020	0,025
	CA-M	0,010	0,010	—	—	0,005	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	CA-S	0,975	0,937	1,000	0,990	0,972	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,980	0,963	0,980	0,975
Hb	Hb-A	0,104	0,060	0,157	0,144	0,110	0,141	0,198	0,210	0,081	0,150	0,140	0,078	0,075	0,095
	Hb-B	0,896	0,940	0,843	0,856	0,890	0,859	0,802	0,790	0,919	0,850	0,860	0,922	0,925	0,905
Dia	Dia-F	0,698	0,838	0,961	0,966	0,864	0,838	0,654	0,700	0,615	0,702	0,580	0,665	0,665	0,640
	Dia-S	0,302	0,162	0,039	0,034	0,136	0,162	0,346	0,300	0,384	0,298	0,420	0,335	0,335	0,360
X**	X-X	0,536	0,485	0,557	0,562	0,512	0,135	0,455	0,322	0,311	0,294	0,314	0,222	0,252	0,260
	X-x	0,464	0,515	0,443	0,438	0,488	0,865	0,545	0,678	0,689	0,706	0,686	0,778	0,748	0,740
NP**	NP-H	0,778	0,593	0,703	0,633	0,660	0,826	0,685	0,654	0,682	0,712	0,553	0,521	0,531	0,534
	NP-L	0,222	0,407	0,297	0,367	0,340	0,174	0,315	0,346	0,318	0,288	0,447	0,479	0,469	0,466
Al	Al-F	—	0,040	—	—	0,013	0,005	—	—	—	0,001	0,005	—	0,004	0,003
	Al-S	1,000	0,960	1,000	1,000	0,987	0,980	1,000	1,000	1,000	0,994	0,995	1,000	0,996	0,997
	Al-V	—	—	—	—	—	0,015	—	—	—	0,005	—	—	—	—
EsA**	EsA-+	0,229	0,158	0,015	0,010	0,104	0,090	0,094	0,106	0,101	0,096	0,106	0,112	0,131	0,117
	EsA-—	0,771	0,842	0,985	0,990	0,896	0,910	0,906	0,894	0,899	0,904	0,894	0,888	0,869	0,883
Tf	Tf-A	0,040	0,080	0,113	0,144	0,093	0,147	0,312	0,240	0,394	0,278	0,170	0,129	0,145	0,147
	Tf-B	0,307	0,371	0,284	0,312	0,324	0,212	0,158	0,160	0,192	0,183	0,170	0,087	0,142	0,132
	Tf-C	0,267	0,175	0,049	0,053	0,140	0,177	0,183	0,160	0,081	0,149	0,260	0,280	0,268	0,269
	Tf-D	0,198	0,245	0,534	0,462	0,348	0,444	0,287	0,410	0,333	0,363	0,275	0,362	0,268	0,301
	Tf-E	0,188	0,129	0,020	0,029	0,095	0,020	0,060	0,030	—	0,027	0,120	0,133	0,165	0,142
Tf-P	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,005	0,009	0,012	0,009	

\* N.º de muestras tomadas en cada rebaño.

\*\* Frecuencias génicas estimadas suponiendo equilibrio Hardy-Weinberg.

Tabla 1.—Frecuencias génicas para cada locus, rebaño y raza.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla 1 se presentan las frecuencias génicas obtenidas para cada locus y población. Como puede observarse, el sistema genético de la Albúmina se caracterizó por su proclividad monomórfica, dado que si exceptuamos los rebaños 2 CH y 1 L, el resto mostró valores de  $A_1$  mayores de 0,99. Asimismo, el locus CA exhibió monomorfismo en los cuatro rebaños de Lacha y en el 3 CH. Los restantes loci resultaron polimórficos en todas las poblaciones.

En la tabla 2 se exponen los valores obtenidos de heterozigosis ( $h$ ) para cada locus y población. De esta tabla se deduce que la variación genética difiere notablemente de unos loci a otros. Los loci CA y  $A_1$  muestran una heterozigosidad muy baja o nula, en contraste con el resto de los sistemas genéticos que exhiben, en la mayor parte de los casos, valores relativamente altos o altos de  $h$ . Respecto al locus de la transferrina es preciso señalar que aporta una gran cantidad de información sobre la variabilidad genética, ya que  $h$  fue superior al 61% en el conjunto de las poblaciones investigadas.

Otro aspecto a señalar es el hecho de que algunas poblaciones difieren ostensiblemente en los valores de heterozigosis para un locus determinado. Nótese, en este sentido, la escasa variación génica que presentan los rebaños 3 CH y 4 CH para los loci Dia y EsA, comparativamente con el resto.

En la tabla 3 se incluyen los promedios de heterozigosis por locus ( $H$ ), junto con sus respectivos errores y el número efectivo de alelos por locus ( $n_e$ ).

Los valores más bajos de  $H$  se evidenciaron en los rebaños 3 CH (0,24), 4 CH (0,25) y 1 L (0,24). Las poblaciones restantes presentan valores de  $H$  que fluctúan entre 0,29 (4 L) y 0,33 (1 M).

La comparación mediante la  $t$  de Student, de cada uno de los valores de  $H$  con el resto, pone de manifiesto que dos poblaciones cualesquiera no presentan diferencias significativas, excepto los pares siguientes: 1 L — 2 L ( $t = 2,15$ ); 1 CH — 2 L ( $t = 2,18$ ); 1 L — 1 M ( $t = 2,30$ ) y 1 M — 3 CH ( $t = 2,26$ ), donde  $P < 0,05$ . De estos resultados se infiere que las poblaciones ovinas estudiadas muestran una variabilidad similar, ya que de un total de 55 comparaciones entre rebaños, sólo cuatro exhiben diferencias significativas. Nótese que estas diferencias se presentaron tanto entre rebaños de la misma como de diferente raza.

BAKER y MANWELL<sup>2</sup> obtienen en las razas ovinas Poll Dorset y Merina unos promedios respectivos de heterozigosis por locus de 7,3 y 10%. Estos valores son sensiblemente inferiores a los hallados por nosotros (en torno al 29%). La explicación de esta discrepancia reside en que los mencionados autores analizan un total de 30 loci, entre proteínas y enzimas, de los cuales más de 2/3 son monomórficos y, consecuentemente  $H$  se reduce. En este sentido, no pretendemos discutir las diferentes estimaciones de  $H$ , sino ofrecer un posible sistema de valoración indirecta de los efectos de la consanguinidad, como ya hemos indicado en el apartado de Material y Métodos.

En cuanto al número efectivo de alelos, osciló entre 1,31 (3 CH, 1 L) y 1,50 (1 M). Los resultados obtenidos mediante este estadístico son paralelos a los hallados

TABLA 2

LOCUS	RAZA CHURRA				RAZA LACHA				RAZA MANCHEGA			
	1 CH	2 CH	3 CH	4 CH	1 L	2 L	3 L	4 L	1 M	2 M	3 M	
CA	0,0487	0,1189	—	0,0190	—	—	—	—	0,0329	0,0707	0,0386	
Hb	0,1864	0,1121	0,2646	0,2468	0,2428	0,3176	0,3318	0,1485	0,2408	0,1438	0,1384	
Dia	0,4216	0,2719	0,0753	0,0651	0,2710	0,4529	0,4200	0,4730	0,4872	0,4455	0,4453	
X	0,4974	0,4996	0,4935	0,4924	0,2391	0,4959	0,4365	0,4285	0,4311	0,3453	0,3773	
NP	0,3460	0,4827	0,4176	0,4646	0,2423	0,4313	0,4528	0,4336	0,4944	0,4991	0,4981	
Al	—	0,0762	—	—	0,0397	—	—	—	0,0099	—	0,0078	
EsA	0,3534	0,2663	0,0291	0,0192	0,1636	0,1695	0,1889	0,1818	0,1889	0,1984	0,2271	
Tf	0,7581	0,7486	0,6182	0,6648	0,7044	0,7581	0,7222	0,6903	0,7844	0,7485	0,7879	

Tabla 2.—Valores de heterozigosis (h) para cada locus y rebaño.

**TABLA 3**

REBAÑO	H	e.s.	n <sub>e</sub>
1 CH	0,3264	0,0875	1,4846
2 CH	0,3220	0,0835	1,4749
3 CH	0,2373	0,0872	1,3111
4 CH	0,2465	0,0926	1,3271
1 L	0,2372	0,0756	1,3110
2 L	0,3282	0,0926	1,4885
3 L	0,3190	0,0871	1,4684
4 L	0,2945	0,0879	1,4174
1 M	0,3345	0,0929	1,5026
2 M	0,3064	0,0887	1,4418
3 M	0,3151	0,0933	1,4601

Tabla 3.—Promedios de heterozigosis (H) con su error estándar (e.s.) y número efectivo de alelos (n<sub>e</sub>) por locus, para cada rebaño.

cuando se cuantifica la variabilidad genética utilizando el parámetro H, hecho esperado si tenemos en cuenta que n<sub>e</sub> (inverso de la frecuencia de homocigotos) es una medida relacionada con la heterozigosis.

Los sistemas genéticos CA, Hb, Dia, Al y Tf muestran codominancia y por consiguiente pueden diferenciarse electroforéticamente los fenotipos homocigotos y los heterocigotos. Esto permite probar si existe o no superdominancia en loci individuales cuando los mismos son variables<sup>12</sup>. En la tabla 4 se exponen los resultados obtenidos al aplicar el test de la ventaja de los heterocigotos en las poblaciones de Churra, Lacha y Manchega. Como puede advertirse, el valor obtenido de Chi-cuadrado fue estadísticamente no significativo en todos los casos considerados, es decir, no hay evidencia de que exista superdominancia en los loci anteriormente indicados.

**TABLA 4**

LOCUS	N.º de individuos	HOMOZIGOTOS		HETEROZIGOTOS		X <sup>2</sup>	RAZA
		OBS.	ESP.	OBS.	ESP.		
CA	356	331	331,15	25	24,85	0,001	CHURRA
Hb	458	359	369,59	99	88,41	1,572	
Dia	458	349	359,91	109	98,09	1,544	
Al	151	139	139,99	12	11,51	0,028	
Tf	458	123	136,20	335	321,80	1,821	
Hb	349	260	261,59	89	87,41	0,039	LACHA
Dia	349	215	208,60	134	140,40	0,488	
Al	99	95	95,07	4	3,93	0,001	
Tf	349	105	98,25	244	250,75	0,645	
CA	336	319	319,47	17	16,53	0,014	MANCHEGA
Hb	336	278	278,67	58	57,33	0,009	
Dia	336	174	182,17	162	153,83	0,800	
Al	227	225	225,02	2	1,98	0,000	
Tf	336	66	75,91	270	260,09	1,671	

Tabla 4.—Test de la ventaja del heterocigoto para cada locus y raza.

Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por NOZAWA et al.<sup>12</sup>. Estos autores no detectan diferencias significativas entre los valores observados y esperados de homocigotos y heterocigotos en 8 loci variables de poblaciones caprinas, concluyendo que: «los marcadores genéticos utilizados son neutrales a la presión de selección»:

A pesar de las limitaciones inherentes a este tipo de estudios, creemos que es de considerable importancia conocer la variabilidad genético-molecular de nuestras poblaciones ovinas autóctonas, dada su posible implicación en programas de mejora genética. La utilización en futuros estudios de un mayor número de loci (polimórficos y monomórficos) deberá aportar datos altamente esclarecedores al respecto.

## RESUMEN

Mediante ocho sistemas genéticos sanguíneos se analiza el grado de heterocigosidad existente en poblaciones ovinas españolas de las razas Churra, Lacha y Manchega. Los sistemas genéticos anhidrasa carbónica y albúmina exhibieron una heterocigosidad baja o nula. Los loci: hemoglobina, diaforasa, esterasa, proteína-X, purina nucleosido fosforilasa y transferrina mostraron, en la mayor parte de los casos, valores altos de h. En el conjunto de las poblaciones examinadas, el promedio de heterocigosidad por locus osciló entre 0,24 y 0,33. En los sistemas genéticos codominantes no se detectaron diferencias significativas entre los valores observados y esperados de homocigotos y heterocigotos.

## ESTIMATION OF HETEROZYGOSITY RATE IN THE SHEEP POPULATIONS

### SUMMARY

Through eight genetic blood systems the degree of existing heterozygosity in spanish sheep populations of Churra, Lacha and Manchega breeds is analysed.

The carbonic anhydrase and albumin genetic system exhibited a low or void heterozygosity. The haemoglobin, diaphorase, esterase, X-protein, purine nucleoside phosphorilase and transferrin loci showed in most cases h high values.

In all the examined populations, the average of heterozygosity per locus oscilated between 0.24 and 0.33. In the codominant genetic systems were not detected any differences between the observed and expected values of homozygote and heterozygote.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) AGAR, N. S.; EVANS, J. V., y ROBERTS, J. (1972).—Red blood cell potassium and haemoglobin polymorphism in sheep. A review. *Anim. Breed Abst.*, **40**, 407-436.
- 2) BAKER, C. M. A., y MANWELL, C. (1977).—Heterozygosity of the sheep: polymorphism of «malic enzyme», isocitrate dehydrogenase (NADP+) catalase and esterase. *Aust. J. Biol. Sci.*, **30**, 127-140.
- 3) BERNSTEIN, S. C.; THROCKMORTON, L. J., y HUBBY, J. L. (1973).—Still more genetic variability in natural populations. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, **70**, 3928-3931.
- 4) CEPICA, S., y STRAHL, A. (1978).—Further studies on sheep polymorphic erythrocyte diaphorase. *Anim. Blood Grps. biochem. Genet.*, **9**, 239-244.
- 5) DOBZHANSKY, Th.; AYALA, F. J.; STEBBINS, G. L., y VALENTINE, J. W. (1980).—*Evolución*, Ed. Omega, S. A., Barcelona, 21-57.
- 6) EFREMOV, G., y BRAEND, M. (1965).—Haemoglobins, transferrins and albumins of sheep and goats. *IXth Eur. Conf. Anim. Blood Grps.*, Prague, 313-320.
- 7) HARRIS, H., y HOPKINSON, D. A. (1978).—*Handbook of enzymes electrophoresis in human genetics*. North Holland, Amsterdam.
- 8) LICOTTE, G. (1977).—*Le polymorphisme biochimique et les facteurs de son maintien*. Ed. Masson, Paris, New York, Barcelona, Milan.
- 9) MANWELL, C., y BAKER, C. M. A. (1977).—Genetic distance between the Australian Merino and the Poll Dorset sheep. *Genet. Res. Camb.*, **29**, 239-253.
- 10) NEI, M. (1978).—Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**, 583-590.
- 11) NEI, M., y ROYCHOVDHARY, A. K. (1974).—Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*, **76**, 379-390.
- 12) NOZAWA, K.; SHINJO, A., y SHOTAKE, T. (1978).—Population genetics of farm animals. III. Blood-protein variations in the meat goats in Okinawa Islands of Japan. *Z. Tierzüchtg. Züchtgsbiol.*, **95**, 60-77.
- 13) SAN PRIMITIVO, F. (1975).—Obtención de sueros reactivos en la determinación de grupos sanguíneos ovinos y su aplicación con los polimorfismos bioquímicos al estudio inmunogenético de la raza Churra. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
- 14) TUCKER, E. M. (1971).—Genetic variation in the sheep red blood cell. *Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc.*, **46**, 341-386.
- 15) TUCKER, E. M. (1975).—Genetic markers in the plasma and red blood cells. En BLUNT, M. H.: *The Blood of sheep*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 132-153.
- 16) TUCKER, E. M.; SUZUKI, Y., y STORMONT, C. (1967).—Three new phenotypic systems in the blood of sheep. *Vox Sang. Basel*, **13**, 246-262.
- 17) TUCKER, E. M., y YUONG, J. D. (1976).—Genetic variation in the purine nucleoside phosphorylase activity of sheep red cells. *Anim. Blood Grps. biochem. Genet.*, **7**, 109-117.