

Editorial

Entre los días 28 y 30 de junio de 2006 se celebra en el Centro Cultural Antiguo Instituto de Gijón (Asturias) la XIII Reunión de Mejora Genética Animal, organizada por un grupo de investigadores del Área de genética y Reproducción Animal del SERIDA y el Centro de Inteligencia Artificial de la Universidad de Oviedo bajo el amparo administrativo de la asociación científica PRINCIPIA.

La idea fundamental de la Reunión es realizar una prospectiva de nuevas tecnologías de aplicación en Mejora Animal divulgando entre la comunidad científica nacional los resultados obtenidos por los diferentes grupos de investigación en este campo. Las sesiones se estructuran mediante exposiciones orales y ponencias invitadas para fomentar las relaciones entre diferentes grupos investigadores que lleven a cabo líneas de investigación paralelas o complementarias y conocer las tecnologías más innovadoras desarrolladas en los diversos campos (informáticos, estadísticos y laboratoriales) incluidos en la Mejora Genética Animal.

Tradicionalmente, las aportaciones realizadas en el campo de la genética cuantitativa y la aplicación de planes de mejora en las distintas especies ganaderas son las más numerosas en estas Reuniones. En la XIII Reunión de Mejora Genética Animal se mantiene esta tónica y siguen siendo numerosas las aportaciones relativas a estimaciones de parámetros genéticos, cálculo de pesos económicos y circunstancias de los programas de mejora en ganado bovino, ovino y porcino presentadas por grupos de gran tradición en estos campos (INIA, NEIKER, IVIA y Agrónomos de Madrid, entre otros). Pero junto a estas comunicaciones "clásicas" se encuentra otras de carácter novedoso sobre estimación de parámetros genéticos en caracteres de importancia económica en acuicultura (por el grupo de Las Palmas de Gran Canaria) y la especie equina (por el grupo de Córdoba-Sevilla). Junto a ellos continúa habiendo aportaciones teóricas de gran interés sobre modelización (UAB e IRTA-UdL), especialmente en cuanto a la posibilidad de selección por reducción de varianza o canalización (UCM e IRTA-UdL).

Junto a este gran bloque de comunicaciones las aportaciones relacionadas con herramientas de genética molecular y la interpretación de esa información continúan ganado peso. Directamente relacionada con la posibilidad de aplicar técnicas de mejora ganadera en piscicultura y especies salvajes se presenta una innovadora comunicación sobre estimadores basados en información molecular para inferir el parentesco genealógico. Asistimos a una importante cantidad de comunicaciones de gran importancia sobre la asociación de QTL y ciertos genes candidatos con caracteres productivos en ganado porcino (aportadas fundamentalmente por los grupos del INIA y la UAB). No faltan aplicaciones de técnicas moleculares a la gestión de la diversidad en ganado ovino (grupo del SERIDA) y caprino (Grupo de Córdoba). Finalmente, una original aportación biotecnológica de AIDA Rodríguez y colaboradores informa sobre los avances en el aislamiento y cultivo de líneas celulares embrionarias bovinas como primeros avances en el campo de las células madre bovinas.

Quiero resaltar la calidad de los trabajos presentados a la XIII Reunión de Mejora Genética Animal de Gijón. Todos ellos poseen carácter innovador y son un fuerte punto de apoyo para aquellos que quieran iniciar o mejorar su formación en aspectos concretos de la Mejora Genética Animal. Gracias a ITEA estos trabajos se conocerán por investigadores no rela-

cionados directamente con el campo específico de la Reunión. El esfuerzo del Comité de Redacción de ITEA y, especialmente, de Clara Marín debe reconocerse.

Asimismo, la colaboración técnica y económica del Ayuntamiento de Gijón y la generosidad financiera del Gobierno del Principado de Asturias a través de la Consejería de Educación y Ciencia (CNG06-04), del INIA (AC06-003) y del propio Ministerio de Educación y Ciencia, así como de Caja Rural de Asturias y Caja Rural de Gijón, han sido imprescindibles para poder llevar a cabo la XIII Reunión de Mejora Genética Animal. A todos ellos, gracias.

Félix M^a Goyache Goñi
Responsable del Comité Organizador

Sumario

Producción Animal

Asociación de una mutación no sinónima del gen <i>MC4R</i> con el crecimiento y rendimiento de piezas nobles en cerdos ibéricos <i>Association of a missense mutation in the MC4R gene with growth and carcass traits in Iberian pigs</i>	
C. Óvilo, A. Fernández, E. De Pedro, J. García-Casco, C. Rodríguez, L. Silió	79
QTL de las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos en porcino <i>QTL affecting plasma cholesterol and triglycerides concentrations in pigs</i>	
D. Gallardo, R. Pena, M. Amills, L. Varona, O. Ramírez, J. Soler, J. Tibau, J. Reixach, I. Díaz, J.M. Prat, J.L. Noguera, R. Quintanilla	86
Selección por reducción de varianza <i>Selection for reduced variance</i>	
N. Ibáñez, D. Sorensen, A. Blasco	92
¿Es razonable un residuo simétrico? <i>¿Why residuals are symmetric in genetic evaluation?</i>	
L. Varona, N. Ibáñez, R.N. Pena, J.L. Noguera, R. Quintanilla	98
Análisis del ajuste de los modelos de riesgos proporcionales mediante bootstrap paramétrico <i>Analysis of proportional hazards models fitting with parametric bootstrap</i>	
J. Casellas, J. Tarrés, J. Piedrafita, L. Varona	103
Estimaciones preliminares de heredabilidades para caracteres de crecimiento en dorada (<i>Sparus auratus</i> L.) <i>Preliminary estimates of heritabilities for growth traits in gilthead seabream (Sparus auratus L.)</i>	
A. Navarro, M.J. Zamorano, M.A. Pérez-Cabal, O. González-Recio, C. Mazorra, R. Ginés, J.M. Afonso	110
Parámetros genéticos de los caracteres lecheros en la raza ovina manchega <i>Genetic parameters of milk traits in manchega breed sheep</i>	
M. Ramón, M.T. Fernández-Perea, M.D. Pérez-Guzmán, P.J. Sánchez, M. Serrano	115

- Evaluación genética del tamaño de camada en sucesivos partos en una línea materna de cerdos *Large White*
Genetic evaluation of litter size for multiple parities in a dam line of Large White pigs
 A. Fernández, M.C. Rodríguez, L. Silió 122
- Diversidad filogenética como método de utilidad en programas de conservación de recursos genéticos ganaderos
Phylogenetic diversity as a tool in conservation of animal genetic resources
 F. Goyache, J.L. Carús, I. Álvarez, J.P. Gutiérrez, I. Fernández, L.J. Royo 133
- Pérdidas de diversidad genética en la raza ovina Xalda de Asturias debidas a la selección contra la susceptibilidad al scrapie
Losses of genetic diversity in the rare Xalda sheep breed due to the implementation of a selective policy including the increase of resistance to scrapie
 I. Álvarez, L.J. Royo, J.P. Gutiérrez, J.J. Arranz, I. Fernández, F. Goyache 139
- Evaluación de un panel de microsatélites para el control de filiación en razas caprinas españolas de aptitud cárnica
Assessment of a microsatellite marker set for parentage testing in six Spanish goat breeds
 P.J. Azor, M. Luque, M. Valera, M. Herrera, A. Membrillo, E. Rodero, A. Molina 145
- Una nota sobre WinLoki: una interfaz de usuario para Loki
A note on WinLoki: a user's interface for Loki
 S. Iglesias, J.J. Arranz, I. Álvarez, I. Fernández, L.J. Royo, F. Goyache 152
- Evaluación de los sistemas *Visible Implant Elastomer* (VIE) y *Passive Integrated Transponder* (PIT) para marcar alevines de bocinegro (*Pagrus pagrus*): efectos sobre el crecimiento, la mortalidad y la tasa de retención
Evaluation of Visible Implant Elastomer (VIE) and Passive Integrated Transponder (PIT) systems to tag fingerling of red porgy (Pagrus pagrus): effects on growth, mortality and tag loss
 M. Soula, A. Navarro, M.J. Zamorano, J. Roo, F. Real, R. Ginés, C.M. Hernández-Cruz, J.M. Afonso 159
- Estima de heredabilidades para caracteres de crecimiento y tamaño de órganos cardiorrespiratorios en salvelino (*Salvelinus alpinus*)
Estimation of heritabilities for growth and cardiorespiratory organ traits in Arctic charr, Salvelinus alpinus L.
 M.A. Montañez, R. Ginés, A. Navarro, J.M. Afonso, H. Thorarensen 168

- Conexión entre rebaños de cabras Murciano-Granadinas de la Comunidad Valenciana vía inseminación
Connectedness between Murciano-Granadina goat herds through artificial insemination in the Valencian Community
 E.A. Gómez, A. Grimal, I. Salvador, M.P. Viudes-de-Castro, J. Bernácer, B. Martínez-Navalón, E. Hernández, A. Ribelles, M.A. Silvestre 175
- Resultados preliminares sobre parámetros genéticos para canalización del incremento de peso en ratones
Preliminary results about genetic parameters associated with weight gain in mice
 N. Ibáñez, A. Moreno, C. Salgado, P. Piqueras, B. Nieto, J.P. Gutiérrez 180
- Aislamiento, cultivo y caracterización de líneas celulares embrionarias bovinas
Isolation, culture, and characterization of embryonic cell lines from bovine blastocysts
 A. Rodríguez, P. Fisher, R. Alberio, E. Gómez, C. Díez, L.J. Royo, J.N. Caamaño, S. Pérez, K.H.S. Campbell 185
- Análisis de estimadores basados en información molecular para inferir el parentesco genealógico
Analysis of estimators based on molecular information to infer genealogical coancestry
 S.T. Rodríguez-Ramilo, M.A. Toro, A. Caballero, J. Fernández 192
- Factores extrínsecos que condicionan las evaluaciones de los jueces en los concursos morfofuncionales de caballos de Pura Raza Española
Extrinsic effects that influence the evaluations of the judges in morpho-functional horse-shows of Spanish Purebred horses
 M.D. Gómez, I. Cervantes, J.A. Gessa, A. Horcada, A. Molina, M. Valera 203
- Evaluación simultánea de la fertilidad del macho y de la hembra en el vacuno de leche
Simultaneous evaluation for male and female fertility in dairy cattle
 O. González-Recio, R. Alenda 215
- Estimación del valor económico de facilidad de parto en la población frisona del País Vasco
Estimation of economic value for calving ease in Basque Hostein population
 E. López de Maturana, E. Ugarte, H. Komen, J.A.M. van Arendonk 222
- Análisis del progreso genético en el programa de mejora de la raza Assaf de León
Analysis of the genetic progress in the Assaf Leon breeding program
 M.A. Jiménez, J.J. Jurado 231

Asociación de una mutación no sinónima del gen *MC4R* con el crecimiento y rendimiento de piezas nobles en cerdos ibéricos

C. Óvilo, A. Fernández, E. De Pedro*, J. García-Casco**, C. Rodríguez, L. Silió

Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, 28040 Madrid

* Departamento de Producción Animal, Universidad de Córdoba, 14004 Córdoba

** AECERIBER, 06300 Zafra, Badajoz

Resumen

Una mutación no sinónima (Asp298Asn) localizada en una región altamente conservada del gen del receptor 4 de la melanocortina (*MC4R*) ha sido asociada en diferentes líneas porcinas con el espesor de grasa dorsal, consumo de pienso, crecimiento y composición de la canal, si bien con resultados no totalmente consistentes. En este estudio, 913 cerdos Ibéricos y 28 jabalíes de diversos orígenes fueron genotipados para este polimorfismo del gen *MC4R*, y se analizó su asociación con caracteres productivos y de calidad en 701 cerdos Ibéricos con registros fenotípicos. Los genotipos observados mostraron una alta frecuencia (0,92) en la raza Ibérica del alelo G (Asp298), que es monomórfico entre los jabalíes genotipados. El alelo A (Asn298) está significativamente asociado con una mayor ganancia diaria de peso en el período de engorde en montanera y con un menor porcentaje de piezas nobles. Asimismo se ha detectado una asociación sugestiva ($P < 0,10$) de este alelo con el contenido en grasa muscular. En función de estos resultados, se discute la utilidad de este polimorfismo del gen *MC4R* en la selección de cerdos Ibéricos.

Palabras clave: Gen *MC4R*; cerdo Ibérico; composición de canal; grasa intramuscular

Summary

Association of a missense mutation in the *MC4R* gene with growth and carcass traits in Iberian pigs

A missense mutation (Asp298Asn) located in a highly conserved region of the melanocortin-4 receptor gene (*MC4R*) has been associated in different pig lines with backfat thickness, feed intake, growth rate and carcass composition although the results are inconsistent. In this study, 913 Iberian pigs and 28 wild boars of diverse origins were genotyped for this *MC4R* polymorphism, and its association with performance and quality traits was analyzed in 701 Iberian pigs with phenotypic records. The observed genotypes showed a high frequency (0,92) in the Iberian breed of the G allele (Asp298), that was monomorphic in the wild boars. The A allele (Asn298) was significantly associated with increased daily growth gain in the fattening period and lower percentage of premium cuts. A suggestive association ($P < 0,10$) of this allele with increased intramuscular fat was also detected. The usefulness of this *MC4R* polymorphism for selection of Iberian pigs is discussed.

Key words: *MC4R* gene; Iberian pig; carcass composition; intramuscular fat

Introducción

La producción de cerdo Ibérico está orientada mayoritariamente a la obtención de cerdos pesados, materia prima de una importante industria transformadora orientada a la elaboración de productos curados de alta calidad. Actualmente existe un programa de evaluación genética de cerdos Ibéricos, a cargo de la Asociación de Ganaderos AECERIBER, basado en datos registrados en cerdos sometidos a un manejo común conforme al sistema extensivo tradicional de 'Montanera' (López-Bote, 1998). Su objetivo es la mejora del crecimiento en la fase final del engorde y del rendimiento en piezas nobles, que son los caracteres de mayor influencia económica (Silió, 2000). La mejora genética de estos caracteres debe evitar la disminución del contenido en grasa intramuscular (GIM), que debe ser elevado para favorecer una lenta deshidratación en el proceso de curación, una adecuada producción de aromas y el veteado de los productos apreciado por los consumidores. Una selección intensa orientada exclusivamente a la mejora del rendimiento en piezas nobles originaría a largo plazo una reducción del contenido en GIM y de la calidad de los productos, aunque la estructura actual de las correlaciones genéticas entre estos caracteres permite descartar a corto plazo estos cambios no deseados (Fernández et al., 2003).

Son varios los genes candidatos propuestos para ser utilizados como herramientas auxiliares en la selección de poblaciones porcinas. Uno de los más sólidamente fundados es el gen del receptor 4 de la melanocortina (*MC4R*), que se expresa en el cerebro produciendo una proteína implicada en la regulación del balance energético de los mamíferos. Una sustitución nucleotídica G/A localizada en la posición 1426 del gen *MC4R* porcino origina un cambio de aminoácido (Asp298Asn), en una posición altamente con-

servada en otras especies y otros receptores de melanocortina (Kim et al., 2004). Esta mutación no sinónima presenta en distintas razas y líneas de cerdos efectos sobre espesor de tocino dorsal, crecimiento y consumo de alimentos (Kim et al., 2000; Hernández-Sánchez et al., 2003; Houston et al., 2004). Estudios más recientes muestran una asociación significativa del polimorfismo con caracteres de composición corporal y calidad de carne y grasa (Chen et al., 2005; Jokubka et al., 2006; Óvilo et al., 2006). Si bien en la mayoría de los trabajos el alelo A se asocia a un mayor crecimiento y engrasamiento, y a un menor rendimiento en piezas nobles, en algunas líneas los resultados han sido inconsistentes (Park et al., 2002; Jokubka et al., 2006). Asimismo se han descrito efectos divergentes sobre el contenido en grasa intramuscular en distintas líneas (Stachowiak et al., 2006).

El gen *MC4R* puede afectar por tanto a los caracteres productivos y de calidad de mayor interés en cerdos Ibéricos, y la selección asistida por este gen tendría especial interés en esta raza, dadas las ineficiencias que presenta su selección convencional dependiente de registros obtenidos en animales emparentados con los candidatos y sacrificados tras un largo ciclo productivo (Silió, 2000). Por ello, el objetivo de este trabajo ha sido el estudio de la variabilidad del citado polimorfismo del gen *MC4R* en una amplia muestra de cerdos Ibéricos de diferentes orígenes genéticos, y de su posible asociación con los caracteres registrados en el esquema de AECERIBER.

Material y métodos

Animales y registros fenotípicos

Para el estudio de las frecuencias alélicas de la mutación citada del gen *MC4R* se analizaron muestras biológicas (pelo, sangre o mús-

culo) de 913 cerdos Ibéricos de ganaderías asociadas a AECEBIBER, asignados a las siguientes variedades: 596 animales Retintos procedentes de 11 ganaderías, 280 animales Entrepelados de seis ganaderías, 22 Negro Lampiños de dos ganaderías y 15 animales de la estirpe Torbiscal del CIA 'Dehesón del Encinar'. Como referencia fueron genotipados además 28 jabalíes abatidos en cacerías en diversas localidades españolas.

Los registros disponibles para el análisis de asociación fueron obtenidos en cuatro campañas diferentes (2001/02 a 2004/05) del esquema de evaluación de AECEBIBER. En este esquema, animales de diferentes ganaderías son trasladados con 3-4 meses de edad a una finca común, siendo alimentados con pienso en régimen de alimentación restringida hasta un peso aproximado de 100 kg. Posteriormente y hasta el sacrificio, a un peso medio de 160 kg, los animales son engordados en régimen de "Montanera", con alimentación *ad libitum* de bellotas y pasto. La ganancia media diaria en la fase final de engorde (GMD) se obtuvo a partir del cociente entre el peso ganado y los días transcurridos entre la entrada y salida en montanera. Después del sacrificio, se registraron el peso

de la canal caliente y los pesos de los jamones, paletas y lomos. A partir de una muestra del músculo *Longissimus dorsi*, obtenida al nivel de la cuarta costilla, se determinó mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) el contenido de grasa intramuscular, humedad y proteína (Fernández et al., 2003). El análisis de asociación se realizó en 701 animales nacidos en 12 ganaderías, seis de la variedad Entrepelado y seis de la variedad Retinto, que presentaron segregación de los alelos del gen *MC4R*. La información de los caracteres registrados en estos animales se muestra en la tabla 1.

Genotipado

El polimorfismo G/A de la posición 1426 del gen *MC4R* fue genotipado mediante un protocolo PCR-RFLP *TaqI*, cuyos detalles pueden encontrarse en Óvilo et al. (2006). El patrón de digestión por el enzima de restricción en el alelo A presenta una única banda de 666 bases, y el patrón del alelo G presenta dos bandas de 450 y 216 bases. Este protocolo se aplicó a los 941 cerdos Ibéricos y jabalíes incluidos en el estudio de variabilidad.

Tabla 1. Principales estadísticos de los caracteres analizados
Table 1. Main statistics of the analysed traits

Caracteres	N	Media	SD	CV (%)
Crecimiento				
GMD, g/d	693	608	153	25
Peso al sacrificio, kg	701	162,37	13,97	9
Composición corporal				
Peso de la canal, kg	701	131,13	12,21	9
Peso de jamones, kg	701	21,24	1,93	9
Peso de paletas, kg	701	14,45	1,27	9
Peso de lomos, kg	700	2,90	0,42	15
Piezas nobles, %	700	29,52	1,98	7
Calidad de la carne				
Grasa Intramuscular, %	486	9,54	3,33	35
Proteína, %	486	19,57	1,09	6

Análisis estadístico

El modelo animal empleado para el estudio de los efectos del gen *MC4R* sobre los caracteres analizados incluía como efectos fijos, además del genotipo de cada animal con datos (3 niveles), la ganadería de origen (12 niveles), el lote de sacrificio (19 niveles) y como covariable el peso de la canal. Como componentes de (co)varianzas se emplearon los obtenidos por Fernández *et al.* (2003) en la estimación de parámetros realizada a partir de registros de 2.500 cerdos Ibéricos del mismo esquema.

Resultados y discusión

En la tabla 2 se muestran la distribución de genotipos y frecuencias alélicas del gen *MC4R* en las diferentes variedades y estirpes analizadas. El alelo G de este gen es el único presente en los jabalíes genotipados, siendo además el mayoritario en los cerdos Ibéricos, que en nuestro estudio presenta una frecuencia 0,92. Con respecto a las diferentes orígenes analizados, es en la variedad Entrepelado donde el alelo A aparece con

mayor frecuencia (0,17), siendo la variedad Negro Lampiño y la estirpe Torbiscal prácticamente monomórficas para el alelo G. Estos resultados son globalmente coincidentes con los descritos por Burgos *et al.* (2006) a partir de un muestreo más reducido de seis jabalíes y 48 cerdos Ibéricos.

De los 701 cerdos Ibéricos incluidos en el estudio de asociación, 561 son homocigotos GG, 129 heterocigotos AG y sólo 11 homocigotos AA. Este reducido número de genotipos AA no permite estimar de forma precisa sus efectos sobre los caracteres analizados, por lo que para la estimación de los efectos del polimorfismo se utilizó únicamente la información de los genotipos AG y GG. El examen de las diferencias entre estos genotipos indica dos efectos significativos: los homocigotos GG tienen una menor ganancia diaria de peso en el período de ceba extensiva y un mayor porcentaje de piezas nobles sobre el peso de la canal, atribuible a un mayor peso de los jamones (tabla 3). Hay asimismo indicación de un posible efecto positivo del alelo A sobre el contenido en GIM en el músculo *Longissimus dorsi*, que no alcanza la significación estadística ($P < 0,10$).

Tabla 2. Distribución de genotipos y frecuencias alélicas del gen *MC4R* en jabalíes y cerdos Ibéricos de diversos orígenes genéticos

Table 2. Distribution of MC4R genotypes and allelic frequencies in Wild boars and Iberian pigs of different genetic origins

	N	A/A	A/G	G/G	A	G
<i>Ibéricos</i>						
Retintos	596	1	56	539	0,05	0,95
Entrepelados	280	10	73	197	0,17	0,83
Negro Lampiños	22	0	1	21	0,02	0,98
Torbiscal	15	0	0	15	0,00	1,00
<i>Jabalíes</i>	28	0	0	28	0,00	1,00

Tabla 3. Efecto de la mutación del gen *MC4R* sobre los caracteres analizados: contraste entre genotipos heterocigotos AG con respecto a homocigotos GG
 Table 3. Effects of the *MC4R* gene mutation on the analysed traits: contrast between heterozygous AG and homozygous GG genotypes

Caracteres	Media	Diferencia A/G - G/G Error típico	P
Crecimiento			
GMD, g/d	23	12	< 0,05
Composición corporal			
Peso de jamones, kg	- 0,37	0,11	< 0,001
Peso de paletas, kg	- 0,08	0,08	< 0,40
Peso de lomos, kg	0,00	0,03	> 0,50
Piezas nobles, %	- 0,34	0,13	< 0,01
Calidad de la carne			
Grasa Intramuscular, %	0,62	0,38	< 0,10
Proteína, %	- 0,13	0,10	< 0,20

El efecto positivo del alelo A sobre el crecimiento ha sido anteriormente descrito en razas de cerdos de producción intensiva para un rango de pesos inferiores a los 100 kg (Kim et al., 2000; Ovilo et al., 2006). En el presente estudio, el efecto positivo de esta mutación sobre el crecimiento se confirma para el período de engorde comprendido entre los 100 y 160 kg registrado en cerdos grasos sometidos a manejo extensivo. El efecto negativo de este alelo sobre el rendimiento de algunas piezas nobles (paletas y lomos) ha sido ya descrito en canales de cerdos de origen Chino-Europeo sacrificados con 127 kg de peso medio (Ovilo et al., 2006). Dadas las múltiples diferencias entre tipos genéticos, de producción y de despiece, no hay motivo para sorprenderse de que en este trabajo en cerdos Ibéricos el efecto significativo detectado sobre la composición de la canal corresponda al peso de los jamones. Los resultados en conjunto son congruentes con el efecto del cambio aminoacídico Asp298Asn en la proteína *MC4R* sobre la regulación del apetito y del crecimiento relativo de tejido graso y muscular.

Por esta vía se explicaría asimismo el posible efecto del alelo A sobre el contenido de grasa intramuscular.

A la vista de las frecuencias alélicas de gen *MC4R* y de la magnitud y sentido de sus efectos estimados sobre caracteres productivos y de calidad, no parece recomendable su utilización en la selección de cerdos Ibéricos con objetivos análogos al del esquema de AECERIBER. La selección favorable para el alelo G carece prácticamente de oportunidades dada su frecuencia abrumadoramente mayoritaria en la población, y el moderado efecto de este alelo sobre el porcentaje de piezas nobles va unido al riesgo de un importante efecto negativo sobre el contenido de grasa intramuscular. Con cierta alegría, Burgos et al. (2006) han sugerido una selección a favor del alelo A en la población de cerdos Ibéricos para favorecer un engrasamiento aun mayor, pero podemos afirmar que este tipo de selección –cuyo objetivo es muy discutible– penalizaría además el rendimiento en piezas nobles. En nuestra opinión sólo estaría justificada –de confirmarse

el efecto positivo de este alelo sobre el contenido de GIM- para la selección de una línea de madres destinada al cruce con machos de raza Duroc. Los productos de este cruce, ampliamente extendido dentro y fuera del área de producción tradicional, se engordan en cebadero con pienso comercial y se sacrifican con peso similar y edad muy inferior (9-10 meses) a las de los Ibéricos puros engordados en extensivo (160 kg y 14-18 meses). Un mayor contenido de GIM, innecesario en las canales de cerdos Ibéricos puros, puede ser deseable en animales cruzados Duroc x Ibérico para optar a una mayor calidad de productos o para reducir los costes de producción mediante la disminución del peso o edad de sacrificio. En tal caso deberían realizarse previamente estudios de asociación en animales cruzados, dado que los efectos del gen *MC4R* sobre los caracteres de interés son dependientes del entorno genético singular de cada población de cerdos (Park et al., 2002; Jokubka et al., 2006; Stachowiak et al., 2006).

Agradecimientos

Los autores agradecen a Paloma Ureta y Florencio Álvarez, técnicos de AECERIBER, su inestimable ayuda en la obtención de los registros de campo y despiece, así como a Nines López, Patricia Muñoz y Nuria Pacheco su asistencia técnica en el trabajo de genotipado.

Bibliografía

- Burgos C, Carrodegua JA, Moreno C, Altarriba J, Tarrafeta L, Barcelona JA, López-Buesa P, 2006. Allelic incidente in several pig breeds of a missense variant of pig melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene associated with carcass and productive traits; its relation to IGF2 genotype. *Meat Sci.* 73: 144-150.
- Chen JF, Xiong YZ, Zuo B, Zheng R, Li FE, Lei MG, Li JL, Deng CY, Jiang SW, 2005. New evidence of effect of melanocortin-4 receptor and insulin-like growth factor 2 genes on fat deposition and carcass traits in different pig populations. *Asian Austral. J. Anim.* 18: 1542-1547.
- Fernández A, de Pedro E, Núñez N, Silió L, García-Casco J, Rodríguez C, 2003. Genetic parameters for meat and fat quality and carcass composition traits in Iberian pigs. *Meat Sci.* 64: 405-410.
- Hernández-Sánchez J, Visscher P, Plastow G, Haley C, 2003. Candidate gene analysis for quantitative traits using the transmission disequilibrium test: the example of the melanocortin 4 receptor in pigs. *Genetics* 164: 637-644.
- Houston RD, Cameron ND, Rance KA, 2004. A melanocortin four receptor (*MC4R*) polymorphism is associated with performance traits in divergently selected large white pig populations. *Anim. Genet.* 35(5): 386-390.
- Jokubka R, Maak S, Kerziene S, Swalve HH, 2006. Association of a melanocortin 4 receptor (*MC4R*) polymorphism with performance traits in Lithuanian White pigs. *J. Anim. Breed. Genet.* 123: 17-22.
- Kim KS, Larsen N, Short T, Plastow G, Rothschild M, 2000. A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits. *Mamm. Genome* 11: 131-135.
- Kim KS, Reecy JM, Hsu WH, Anderson LL, Rothschild MF, 2004. Functional and phylogenetic analyses of a melanocortin-4 receptor mutation in domestic pigs. *Domest. Anim. Endocr.* 26: 75-86.
- López-Bote C, 1998. Sustained utilization of the Iberian pig breed. *Meat Sci.* 49 Suppl. 1, S17-S27.
- Óvilo C, Fernández A, Rodríguez MC, Nieto M, Silió L, 2006. Association of *MC4R* gene variants with growth, fatness, carcass composition

- and meat and fat quality traits in heavy pigs. *Meat Sci.* 73: 42-47.
- Park HB, Carlborg O, Marklund S, Andersson L, 2002. Melanocortin four receptor (MC4R) genotypes have no major effect on fatness in a Large White x Wild Boar intercross. *Anim. Genet.* 33: 155-157.
- Silió L, 2000. Iberian pig breeding programme. In S. Galal, J. Boyazoglu, and K. Hammond (Eds.), *Developing breeding strategies for lower input animal production environments* (pp. 511-519). Rome: ICAR.
- Stachowiak M, Szydlowski M, Obarzanek-Fojt M, Switonski M, 2006. An effect of a missense mutation in the porcine melanocortine-4 receptor (MC4R) gene on production traits in Polish pig breeds is doubtful. *Anim. Genet.* 37: 55-57.
- (Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

QTL de las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos en porcino

D. Gallardo^{2,*}, R. Pena^{1,*}, M. Amills², L. Varona¹, O. Ramírez¹, J. Soler³, J. Tibau³, J. Reixach⁴, I. Díaz⁵, J.M. Prat⁶, J.L. Noguera¹, R. Quintanilla^{1,**}

¹ Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, 25198 Lleida.

² Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

³ Centre de Control Porcí (IRTA), 17121 Monells.

⁴ Selecció Batallé S.A., 17421 Riudarenes.

⁵ Centre de Tecnologia de la Carn (IRTA), 17121 Monells.

⁶ Laboratori d'Anàlisi Clíniques, Hospital de Palamós, Palamós.

* Ambos autores han contribuido por igual.

** Correspondencia: Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA. Avda. Rovira Roure 191. 25198 Lleida (Spain). E-mail. raquel.quintanilla@irta.es; Telf. (+34)973003433.

Resumen

A partir de los datos disponibles hasta la fecha en el marco del proyecto LIPGEN, se ha llevado a cabo un análisis preliminar para la detección de QTL relacionados con las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos a dos edades. En dicho proyecto se generó una población experimental de 370 machos de una línea comercial Duroc, distribuidos en cinco familias de hermanos paternos. De esta población experimental se extrajeron dos muestras de sangre a los 40 (369 registros) y a los 180 (267 registros) días de edad, sobre las que se midieron las concentraciones plasmáticas de colesterol total, colesterol ligado a lipoproteínas de alta y de baja densidad, y triglicéridos. Todos los individuos más los cinco machos parentales se han genotipado para 110 microsatélites informativos distribuidos a lo largo de todo el genoma. El análisis de QTL reveló la presencia de varias regiones del genoma relacionadas con las concentraciones plasmáticas de colesterol, lipoproteínas y triglicéridos en los cromosomas 3, 4, 5, 6, 8 y 12. Estos resultados vendrían a confirmar la naturaleza poligénica del metabolismo del colesterol en porcino, y proporcionan una valiosa información para el estudio de la arquitectura genética de estos caracteres.

Palabras clave: QTL, colesterol, porcino

Summary

QTL affecting plasma cholesterol and triglycerides concentrations in pigs

A preliminary genome scan for plasma cholesterol levels in pigs was carried out. An experimental population of 370 males distributed in five half-sib families was generated from a commercial Duroc line. These animals were measured for plasma cholesterol, low density lipoproteins, high density lipoproteins and triglyceride concentrations, at 40 (369 records) and 180 (267 records) days of age. All individuals recorded plus the five parental boars were genotyped for 110 informative microsatellites covering the whole genome. The QTL analyses revealed several genomic regions with significant gene effects on plasma cholesterol, lipoproteins and triglyceride concentrations on chromosomes 3, 4, 5, 6, 8 and 12. These results yield very valuable information aimed to understand the genetic architecture of these traits.

Key words: QTL, cholesterol, pigs

Introducción

El colesterol se transporta en el torrente sanguíneo en asociación con lipoproteínas, siendo las más conocidas las lipoproteínas de alta (HDL) y baja (LDL) densidad. Los elevados niveles de colesterol plasmático en humanos representan uno de los principales factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares. En el caso del porcino también se ha descrito un cuadro de hipercolesterolemia familiar, caracterizado por la presencia de elevados niveles de colesterol y apolipoproteínas B, C-III y E que conduce a lesiones vasculares ateroscleróticas similares a las descritas en humanos (Hasler-Rapacz et al. 1995). De este modo y a pesar de las diferencias en el metabolismo lipídico entre humano y porcino, la especie porcina puede considerarse un modelo animal de gran interés para el estudio de los factores genéticos que regulan las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos, profundizando de este modo en el conocimiento sobre las dislipemias. Desafortunadamente, la información disponible acerca de la arquitectura genética del metabolismo del colesterol en porcino es sumamente escasa. Hasta la fecha tan solo se ha realizado un único barrido genómico (Hasler-Rapacz et al., 1998), mostrando que la hipercolesterolemia familiar en porcino está asociada con la segregación de la mutación R84C del receptor de LDL. No obstante, la naturaleza poligénica del metabolismo del colesterol en humano y ratón hace pensar que deben existir otras muchas regiones genómicas implicadas en la variación de estos caracteres todavía por determinar en porcino. En el marco del proyecto LIPGEN, se ha llevado a cabo un análisis preliminar de QTL para las concentraciones plasmáticas de colesterol total, LDL, HDL y triglicéridos en una población comercial Duroc.

Material y Métodos

El material animal procede de una línea comercial Duroc, utilizada en la producción de jamón curado de calidad. Con animales de esta línea, se generó una población de familias de hermanos paternos, mediante el apareamiento de cinco verracos parentales con 370 hembras, y tomando un solo descendiente de cada camada. Estos animales fueron castrados, se trasladaron al Centro de Control Porcino del IRTA (CCP) tras el destete, y fueron controlados durante el período de cebo (hasta unos 120 kg de peso vivo y 190 días de edad). Durante su estancia en el CCP se extrajeron dos muestras de sangre de estos animales, sobre los 40 y los 180 días de edad, en las que se midieron los niveles plasmáticos de colesterol total (CHOL), LDL, HDL y triglicéridos (TG). La tabla 1 muestra la estructura y el tamaño de los datos fenotípicos disponibles para realizar el presente estudio. Todos los individuos controlados más los cinco machos parentales fueron genotipados para un total de 110 microsatélites informativos distribuidos a lo largo de todo el genoma. En el momento de realizar el presente análisis no obstante, tan solo un 80% de los microsatélites estaban genotipados en todos los individuos de la población experimental.

Los análisis se realizaron dentro de cada una de las cinco familias de hermanos paternos, mediante la aproximación descrita por Knott et al. (1996) para el análisis de familias de medio hermanos. El modelo común de análisis en todos los casos fue:

$$y_{ij} = \mu + f_i + \beta \text{cov}_{ij} + \alpha p_{ij} + e_{ij}$$

donde:

y_{ij} representa las observaciones fenotípicas de cada individuo i , en este estudio las concentraciones plasmáticas de CHOL, LDL, HDL y TG a 40 y 180 días de edad.

f_i es un efecto sistemático, en nuestros análisis granja de origen para las medidas a 40 días y lote de control para las medidas a 180 días.

β y cov_{ij} son el coeficiente de regresión y la edad a la extracción de sangre para el análisis respectivamente. Esta covariable tan solo fue considerada para las medidas a 40 días de edad, ya que la edad no resultó significativa para los caracteres medidos a 180 días

de edad (resultados obtenidos en análisis previos).

p_{ij} es la probabilidad de que un individuo haya heredado uno de los alelos del padre común, calculada mediante la aproximación descrita en Knott et al. (1996).

α es el coeficiente de regresión de los fenotipos sobre la probabilidad de haber recibido uno de los alelos del padre común.

Tabla 1. Número de registros disponibles (N) para las concentraciones plasmáticas de lípidos a dos edades y media (desviación estándar) de las variables analizadas (en mg/dl) por familia de hermanos paternos

Table 1. Number of records available for plasma lipid concentrations at two ages and mean (standard deviation) of the analysed traits (mg/dl) for each one of the five paternal half-sib families

	BR22311 Padre 1	BR112290 Padre 2	BR18035 Padre 3	BL12445 Padre 4	BL12441 Padre 5
A 40 días	N=50	N=95	N=78	N=83	N=63
Colesterol total	88.00 (33.12)	84.23 (26.71)	83.00 (32.32)	75.54 (11.15)	77.13 (14.83)
HDL-colesterol	33.72 (10.62)	31.98 (10.12)	32.33 (12.30)	30.50 (6.36)	30.57 (7.42)
LDL-colesterol	45.18 (21.24)	42.14 (16.88)	42.66 (20.30)	35.87 (7.85)	38.98 (10.74)
Triglicéridos	48.52 (19.51)	50.42 (24.02)	40.03 (14.42)	45.77 (22.35)	37.65 (11.41)
A 180 días	N=43	N=85	N=45	N=54	N=40
Colesterol total	126.91 (25.30)	130.38 (25.57)	121.62 (25.51)	116.96 (20.45)	132.43 (20.03)
HDL-colesterol	51.34 (13.11)	53.92 (11.77)	51.25 (10.22)	49.13 (9.42)	54.19 (8.19)
LDL-colesterol	64.25 (16.91)	64.26 (17.58)	61.01 (16.76)	57.31 (12.70)	69.52 (14.49)
Triglicéridos	56.05 (27.52)	59.86 (24.77)	46.24 (20.47)	52.96 (22.62)	44.10 (19.97)

La mayor parte de los análisis se llevaron a cabo utilizando el software *QTL express* desarrollado por Haley y Knott, disponible en <http://qtl.cap.ed.ac.uk/>. Para cada análisis se realizó un test de F con un grado de libertad en el numerador. Los umbrales de significación se determinaron empíricamente mediante permutación de los datos (Churchill and Doerge, 1994), realizando un total de 5000 permutaciones en cada análisis independiente (cromosoma*familia*carácter) para obtener la distribución de F bajo la hipótesis nula (ausencia de QTL). Los umbrales de significación obtenidos difirieron para

cada combinación cromosoma-familia (de 5.0 a 7.6 para los umbrales al 5%), pero no difirieron sustancialmente entre caracteres. Finalmente, en cada combinación cromosoma-familia se tomó el umbral de F más conservador como umbral sugestivo para todos los caracteres.

Resultados y Discusión

Los QTL más relevantes identificados en el barrido genómico realizado dentro de fami-

lia para las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos a los 40 y los 180 días de edad se muestran en la tabla 2. A pesar de esperar una moderada potencia en este análisis preliminar, los resultados muestran la presencia de QTL altamente significativos (a nivel cromosómico) en distintas regiones del genoma porcino. Una de las regiones con mayor significación se mapeó en el intervalo 80-92 cM del cromosoma 3, donde se detectaron QTL para CHOL, LDL, HDL y TG a los 40 días de edad. Estos QTL se mapearon en posiciones próximas al QTL descrito por Andersson-Eklund et al. (1998) para el área del *Longissimus Dorsi*. Es de particular interés que esta región del genoma porcino (3q1.4-2.6) es ortóloga a la región 2p13-p25 del genoma humano, donde también se ha descrito un QTL para TG, HDL y LDL (Wang y Paigen, 2005). También en el cromosoma 3 de porcino, aunque en posiciones distantes a las de los QTL aquí descritos, se han descrito QTL para el contenido de androstenona en la grasa (Quintanilla et al., 2003) y para caracteres de crecimiento (e.g. Bidanel et al., 2001).

También se encontraron evidencias de la segregación de un QTL para CHOL40 y LDL40 en el intervalo 68-72 cM del cromosoma 6, donde Grindflek et al. (2001) describieron un QTL para grasa intramuscular. Asimismo y aunque con menor significación estadística ($p < 0.05$ a nivel cromosómico), también se identificaron QTL para HDL40 y TG180 en el cromosoma 4, en posición (80 cM) similar a la de los QTL anteriormente descritos para otros caracteres relacionados con el metabolismo lipídico, como el espesor del tocino dorsal o la composición de la grasa subcutánea (Pérez-Enciso et al., 2000; Bidanel et al., 2001; Varona et al., 2002). Estos resultados sugieren que las regiones de los cromosomas 4 y 6 anteriormente mencionadas con-

tienen uno o varios genes con efectos pleiotrópicos sobre el metabolismo de los ácidos grasos y el colesterol.

Adicionalmente, en una de las familias se identificaron QTL altamente significativo para TG180 y TG40 en distintas posiciones de los cromosomas 4 (24 cM) y 6 (144 cM) respectivamente. Este resultado adquiere especial relevancia si se tiene en cuenta que las regiones 4p1.3-1.5 y 6q3.1-3.5 del genoma porcino ortólogas a las regiones 8q22-24 y 1p31-36 del genoma humano, donde también se han descrito QTL para la concentración plasmática de TG (Wang y Paigen, 2005). De este modo, estos resultados parecen indicar que los cromosomas 4 y 6 podrían contener múltiples loci con efectos sobre el metabolismo lipídico en porcino.

Otros QTL relevantes, ligados a diferentes medidas de lípidos plasmáticos, se encontraron en los cromosomas 5, 8 y 12. Aunque apenas existen referencias a los QTL relacionados con los niveles de lípidos plasmáticos en porcino, cabe tener en cuenta que sí se han descrito QTL en estos cromosomas relacionados con el engrasamiento y la composición de la grasa (Bidanel et al., 2001; Quintanilla et al., 2002; Clop et al., 2003).

Conclusiones

Un análisis preliminar ha permitido detectar diversas regiones genómicas en los cromosomas 3, 4, 5, 6, 8 y 12 significativamente ligadas a las concentraciones plasmáticas de colesterol y triglicéridos. Estos resultados vendrían a confirmar la naturaleza poligénica del metabolismo del colesterol en porcino, y proporcionan una importante información para continuar el estudio de la arquitectura genética de estos caracteres.

Tabla 2. Resultados significativos del barrido genómico realizado para las concentraciones plasmáticas de colesterol total, colesterol ligado a lipoproteínas de alta (HDL) y baja (LDL) densidad y triglicéridos a los 40 y los 180 días de vida

Table 2. Significant results of the genome scan for total cholesterol, high (HDL) and low (LDL) density lipoproteins and triglyceride plasma concentrations at 40 d and 180 d

SSC ^A	Carácter	Familia	Posición (cM) ^B	F-ratio
3	Colesterol total 40d	1 4	84*** 8*	14.59 7.84
3	HDL-colesterol 40d	1 4	84*** 16**	17.25 10.57
3	LDL-colesterol 40d	1	84**	11.38
3	Triglicéridos 40d	1	80**	9.24
3	HDL-colesterol 180d	1	92*	7.12
4	HDL-colesterol 40d	1	80*	6.09
4	Colesterol total 180d	3	0*	8.86
4	LDL-colesterol 180d	3	4*	8.95
4	Triglicéridos 180d	2 4	24*** 80*	17.79 5.63
5	Colesterol total 40d	5	56*	6.35
5	LDL-colesterol 40d	2 5	96* 76*	6.72 7.03
5	Triglicéridos 40d	5	64**	11.07
5	Triglicéridos 180d	4	16*	7.40
6	Colesterol total 40d	1	68**	10.68
6	LDL-colesterol 40d	1	72***	13.72
6	Triglicéridos 40d	1 2	8* 144**	5.77 9.72
8	Colesterol total 40d	4	44**	12.77
8	HDL-colesterol 40d	4	36**	12.90
8	LDL-colesterol 40d	4	48*	6.52
8	LDL-colesterol 180d	4	16*	5.91
12	Colesterol total 40d	1	88**	9.04
12	HDL-colesterol 40d	1	88*	6.97
12	LDL-colesterol 40d	1	88**	9.58
12	HDL-colesterol 180d	1 5	88* 60*	6.31 5.75

^A SSC=*Sus Scrofa Chromosome*; ^B *= $p < 0.05$; **= $p < 0.01$; ***= $p < 0.001$, a nivel cromosómico.

Agradecimientos

Los autores agradecen a *Selección Batallé S.A.* el haber proporcionado el material animal, así como su cooperación en el protocolo experimental.

Este estudio ha sido financiado por el proyecto AGL2002-04271-C03-03 (MEC).

Bibliografía

Andersson-Eklund L, Marklund L, Lundström K, Haley CS, Andersson K, Hansson I, Moller M, Andersson L, 1998. Mapping quantitative trait loci for carcass and meat quality traits in a wild boar x Large White intercross. *J. Anim. Sci.* 76: 694-700.

- Bidanel JP, Milan D, Iannuccelli N, Amigues Y, Boscher MY, Bourgeois F, Caritez JC, Gruand J, Le Roy P, Lagant H, Quintanilla R, Renard C, Gellin J, Ollivier L, Chevalet C, 2001. Detection of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Genet. Sel. Evol.* 33: 289-309.
- Clop A, Ovilo C, Pérez-Enciso M, Cercos A, Tomas A, Fernandez A, Coll A, Folch JM, Barragan C, Díaz I, Oliver MA, Varona L, Silio L, Sánchez A, Noguera L, 2003. Detection of QTL affecting fatty acid composition in the pig. *Mamm. Genome* 14: 650-656.
- de Koning DJ, Janss LLG, Rattink AP, van Oers PAM, de Vries BJ, Groenen MAM, van der Poel JJ, de Groot PN, Brascamp EW, van Arendonk JAM, 1999. Detection of quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pigs (*Sus scrofa*). *Genetics* 152: 1679-90.
- Grindflek E, Szyda J, Liu Z, Lien S, 2001. Detection of quantitative trait loci for meat quality in a commercial slaughter pig cross. *Mamm. Genome* 12: 299-304.
- Hasler-Rapacz J, Ellegren H, Fridolfsson AK, Kirkpatrick B, Kirk S, Andersson L, Rapacz J, 1998. Identification of a mutation in the low density lipoprotein receptor gene associated with recessive familial hypercholesterolemia in swine. *Am. J. Med. Genet.* 76: 379-386.
- Knott SA, Elsen JM, Haley CS, 1996. *Theoretical and Applied Genetics* Vol. 93, pp. 7180.
- Pérez-Enciso M, Clop A, Noguera JL, Ovilo C, Coll A, Folch JM, Babot D, Estany J, Oliver MA, Díaz I, Sánchez A, 2000. A QTL on pig chromosome 4 affects fatty acid metabolism: evidence from an Iberian by Landrace intercross. *J Anim Sci.* 78: 2525-2531.
- Quintanilla R, Milan D, Bidanel JP, 2002. A further look at quantitative trait loci affecting growth and fatness in a cross between Meishan and Large White pig populations. *Genet. Sel. Evol.* 34: 193-210.
- Quintanilla R, Demeure O, Bidanel JP, Milan D, Iannuccelli N, Amigues Y, Gruand J, Renard C, Chevalet C, Bonneau M, 2003. Detection of quantitative trait loci for fat androstenone levels in pigs. *J. Anim. Sci.* 81: 385-394.
- Varona L, Ovilo C, Clop A, Noguera JL, Pérez-Enciso M, Coll A, Folch JM, Barragan C, Toro MA, Babot D, Sánchez A, 2002. QTL mapping for growth and carcass traits in an Iberian by Landrace pig intercross: additive, dominant and epistatic effects. *Genet. Res.* 80: 145-154.
- Wang X, Paigen B, 2005. Genome-wide search for new genes controlling plasma lipid concentrations in mice and humans. *Curr Opin Lipidol.* 16: 127-137.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Selección por reducción de varianza

N. Ibáñez*, ***, D. Sorensen**, A. Blasco***

* Àrea de Producció Animal - Centre UdL-IRTA, 25198 Lleida, España.

** Danish Institute of Agricultural Sciences, Department of Animal Breeding and Genetics, PB50, 8830 Tjele, Denmark.

*** Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica de Valencia. P.O. Box 22012, 46071 Valencia, España.

Resumen

Se ha derivado una fórmula aproximada para predecir la respuesta de la selección por reducción de varianza del tamaño de camada en conejos con un modelo que postula que una parte de la varianza ambiental esta controlada genéticamente. Esta fórmula ha sido evaluada mediante simulaciones MCMC. La semejanza entre la respuesta predicha y la simulada en diez generaciones de selección es muy alta cuando la intensidad de selección es baja o moderada, pero menor cuando la intensidad de selección aumenta. También se presenta una evaluación de la potencia estadística para detectar la respuesta por reducción de varianza en tres diseños de selección utilizados para el tamaño de camada en conejo. La potencia aumenta con la intensidad de selección para los tres diseños y con la duración del experimento. La selección divergente es el diseño más eficiente para detectar la respuesta, seguido de una línea seleccionada y del diseño con una línea seleccionada y otra control. Para la selección divergente, se obtiene una potencia del 80% después de 6 generaciones con presiones de selección alta e intermedia.

Palabras clave: Varianzas heterogéneas, Respuesta a la selección, Conejos

Summary

Selection for reduced variance

An approximate formula to predict response to selection for reduced variance of litter size in rabbits is derived under a model postulating that the environmental variance is partly under genetic control. The formula is evaluated using computer simulations. The agreement between predicted and observed results over a period of ten generations of selection is excellent if selection intensity is low to moderate, and less so, as selection increases. An evaluation of the statistical power to detect response to selection for reduced variance under three designs mimicking a prospective experiment involving litter size in rabbits is also reported. Power increases with selection intensity for all three designs and with the duration of the experiment. Divergent selection is the most efficient design followed by a single selected line and then by the design involving a selected and a control line. For divergent selection, power approaches 80% after 6 generations of selection at intermediate and high selection intensities.

Key words: Heterogeneous variances, Response to selection, Rabbits

Introducción

En producción animal, la selección se ha centrado principalmente en aumentar la media de un carácter, como el caso del tamaño de camada en especies prolíficas (cerdos y conejos). Sin embargo, debido a la baja heredabilidad del carácter, la selección ha tenido poco éxito, muy inferior al esperado. Reducir la varianza ambiental del tamaño de camada implicaría aumentar su heredabilidad y con ello sus posibilidades de éxito en la selección. Además es bien conocido que la elevada varianza del tamaño de camada puede tener importantes consecuencias económicas derivadas de la escasa viabilidad de camadas muy numerosas y de las dificultades de manejo de camadas de tamaño muy distinto. Sería deseable que una coneja produjera altos tamaños de camada y que estos fueran similares en todos sus partos. Recientemente hay trabajos que muestran la existencia de mecanismos moleculares afectando la variación fenotípica (Queitsch, C., Sangster, T.A., Lindquist, S., 2002). También, hay trabajos en genética cuantitativa indicando que parte de la variación ambiental puede estar bajo control genético (Sorensen y Waagepetersen 2003 y Ros et al., 2004). Estos estudios son importantes porque abren la posibilidad de controlar la variación, fenotípica o ambiental, de un carácter a través de la selección. En el caso del tamaño de camada, la mayor parte de la variación fenotípica es ambiental, siendo la varianza genética una parte inferior al 10% del total, y en muchas ocasiones inferior al 5% de la variación total.

En este trabajo se presenta una formula aproximada para predecir la respuesta a la selección por variación fenotípica y se testa su precisión usando simulación MCMC. También se discuten diferentes diseños de un experimento de selección para reducir la

varianza, teniendo en cuenta la potencia del test en cada uno de los diseños.

Material y métodos

Modelo genético

San Cristobal-Gaudy et al. (1998) propusieron un modelo en el que la varianza residual tiene estructura genética. Se asume que la distribución de muestreo de los datos es Gaussiana, con forma

$$y | \mathbf{b}, \mathbf{a}, \mathbf{a}^*, \mathbf{p}, \mathbf{p}^* \sim N(\mathbf{X}\mathbf{b} + \mathbf{Z}\mathbf{a} + \mathbf{W}\mathbf{p}, \exp(\mathbf{X}'\mathbf{b}^* + \mathbf{Z}'\mathbf{a}^* + \mathbf{W}'\mathbf{p}^*)) \quad (1)$$

Donde los vectores \mathbf{b} y \mathbf{b}^* contienen efectos ambientales (en este caso, efecto generación), y \mathbf{X} , \mathbf{Z} , \mathbf{W} son matrices de incidencia conocidas. Los efectos aditivos \mathbf{a} y \mathbf{a}^* se asumen distribuidos normalmente

$$\begin{bmatrix} \mathbf{a} \\ \mathbf{a}^* \end{bmatrix} | G \sim N(0; G \otimes A),$$

$$G = \begin{bmatrix} \sigma_a^2 & \rho\sigma_a\sigma_{a^*} \\ \rho\sigma_a\sigma_{a^*} & \sigma_{a^*}^2 \end{bmatrix}, \quad (2)$$

donde \mathbf{A} es la matriz de relaciones genéticas, σ_a^2 es la varianza aditiva genética de la media del carácter, $\sigma_{a^*}^2$ es la varianza genética aditiva de la varianza ambiental del carácter, ρ es el coeficiente de correlación genética y \otimes corresponde al producto de Kronecker. Los vectores \mathbf{p} y \mathbf{p}^* contienen los efectos ambientales permanentes para la media y la varianza ambiental del carácter respectivamente, y se asumen independientes con distribuciones,

$$\begin{aligned} \mathbf{p} | \sigma_p^2 &\sim N(0, I_p \sigma_p^2), \\ \mathbf{p}^* | \sigma_{p^*}^2 &\sim N(0, I_{p^*} \sigma_{p^*}^2) \end{aligned} \quad (3)$$

donde \mathbf{I}_p es la matriz con tamaño igual al número de hembras con camadas y σ_p^2 y $\sigma_{p^*}^2$ son las varianzas de los ambientes permanentes. Más detalles pueden encontrarse en Sorensen y Waagepetersen (2003).

Predicción de la respuesta genética a la selección

Se presupone que el objetivo de la selección es reducir la varianza ambiental. El criterio de selección empírico es la varianza de datos de una hembra, en este caso la varianza del número de gazapos entre los partos de una hembra. La selección direccional se describe usando la siguiente función lineal de la "fitness"

$$w(y) = 1 - sS^2 \tag{4}$$

donde $S^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2$ es el criterio de selección, s es una pequeña cantidad que describe la intensidad de la selección artificial y n es el número de datos por hembra. La "fitness" del genotipo (\mathbf{a}, \mathbf{a}^*) se define como

$$w(\mathbf{a}, \mathbf{a}^*) = E[w(y) | \mathbf{a}, \mathbf{a}^*] = 1 - sE(S^2 | \mathbf{a}, \mathbf{a}^*) = 1 - s \exp(\mathbf{b}^* + \mathbf{a}^* + \mathbf{p}^*)$$

La respuesta a la selección de \mathbf{a}^* en un ambiente determinado (condicionado en \mathbf{b}^* y a los componentes de varianza) es,

$$R_{a^*} = \iint \mathbf{a}^* \frac{w(\mathbf{a}, \mathbf{a}^*)}{\bar{w}} p(\mathbf{a}, \mathbf{a}^*) d\mathbf{a} d\mathbf{a}^* = -\frac{s}{\bar{w}} \sigma_{a^*}^2 \exp\left(Xb^* + \frac{\sigma_{a^*}^2}{2} + \frac{\sigma_{p^*}^2}{2}\right) - \frac{s}{\bar{w}} \sigma_{a^*}^2 [(1-h^2)\sigma^2 - \sigma_{p^*}^2]$$

donde $h^2 = \sigma_a^2 / \sigma^2$ y $\sigma^2 = \sigma_a^2 + \exp(Xb^* + \frac{\sigma_{a^*}^2}{2} + \frac{\sigma_{p^*}^2}{2})$. La varianza (incondicional) del criterio de selección S^2 es

$$Var(S^2) = [(1-h^2)\sigma^2 - \sigma_{p^*}^2] \left[\left(1 + \frac{2}{n-1}\right) \exp(\sigma_{a^*}^2) - 1 \right]$$

Escribiendo la intensidad de selección $i = \frac{s}{w} \sqrt{Var(S^2)}$ (San Cristobal-Gaudy et al., 1998), se deriva, que la respuesta en \mathbf{a}^* debida a la selección basada en el criterio S^2 viene dada por la siguiente expresión

$$R_{a^*} = -i \frac{\sigma_{a^*}^2}{\sqrt{\left(1 + \frac{2}{n-1}\right) \exp(\sigma_{a^*}^2) - 1}} \tag{5}$$

La respuesta predicha a tiempo t es aproximadamente tRa^* .

Predicción de la respuesta correlacionada de la media

La respuesta correlacionada de \mathbf{a} , dado \mathbf{b}^* y los componentes de varianza es

$$CR_a = \iint \mathbf{a} \frac{w(\mathbf{a}, \mathbf{a}^*)}{\bar{w}} p(\mathbf{a}, \mathbf{a}^*) d\mathbf{a} d\mathbf{a}^* = -\frac{s}{\bar{w}} \frac{\sigma_a}{\sigma_{a^*}} \rho \sigma_{a^*}^2 \exp\left(Xb^* + \frac{\sigma_{a^*}^2}{2} + \frac{\sigma_{p^*}^2}{2}\right) = R_{a^*} \frac{\sigma_a}{\sigma_{a^*}} \rho$$

La predicción de la respuesta correlacionada a tiempo t es aproximadamente tCR_a .

Estudio de simulación

Se realizó un experimento de simulación con el objetivo de testar la precisión de las formulas expuestas anteriormente, además de estudiar la potencia del test para detectar la respuesta a la selección por reducción de varianza en tres diseños diferentes. Estos tres diseños tienen el mismo número de animales y corresponden a una sola línea seleccionada, a una línea seleccionada y una línea control y a dos líneas seleccionadas una hacia arriba y otra hacia abajo. En cada uno de los tres diseños se aplicó tres intensidades de selección: baja (Proporción de seleccionados $P = 50\%$), intermedia ($P = 33\%$) y alta ($P = 15\%$). La selección fue aplicada en un solo sexo. La función lineal de la "fitness" (4), es una aproximación del modelo de selección utilizado en simulación, por lo que se espera un mejor comportamiento para bajas intensidades de selección.

Los datos fueron generados por el modelo especificado en (1), (2), y (3). Los valores genéticos aditivos de la descendencia fueron generados usando las reglas mendelianas estándar bajo el modelo infinitesimal y teniendo en cuenta el coeficiente de consanguinidad.

El número de animales usado por generación en los tres diseños fue de 200, (40 machos y 160 hembras). Este tamaño corresponde al espacio disponible en una granja experimental de la Universidad de Orihuela, donde un experimento de selección para reducir la varianza del tamaño de camada en conejo se va a realizar. Cada una de las 160 hembras producen tres datos y el índice S^2 es calculado para cada hembra. La descendencia para crear la siguiente generación fue tomada de hembras (madres) con los menores valores de S^2 .

Los parámetros utilizados en la simulación de los datos proceden de un análisis Bayesia-

no de datos de tamaño de camada en conejo aplicando el modelo descrito por (1), (2) y (3). Estos datos provienen de un experimento de selección de 20 generaciones. Las estimas de las medias posteriores de los parámetros relevantes fueron las siguientes; $\mathbf{b}=10$, $\mathbf{b}^*=2.25$, $\sigma_a^2=1.28$, $\sigma_{a^*}^2=0.14$, $\rho=-0.75$, $\sigma_p^2=0.7$ and $\sigma_{p^*}^2=0.15$.

La respuesta a la selección (verdadera) para la varianza de un carácter en una generación dada, se definió como la media de los valores genéticos aditivos \mathbf{a}^* pertenecientes a cada generación. De manera similar, la respuesta correlacionada a la selección (verdadera) de la media corresponde a la media de los valores de \mathbf{a} .

Potencia del test

La potencia del test se calculó a través de una estima Monte Carlo, obtenida como el porcentaje de replicas en cada generación en las que la respuesta a la selección fue "detectada". Esto implica simular datos bajo la hipótesis nula (una muestra aleatoria de machos y hembras con respecto S^2 y fijar el nivel de significación al 5% de error de tipo I) y bajo la hipótesis alternativa (la selección basada en S^2).

Resultados

Ejemplos de las respuestas aditivas predichas y observadas (verdaderas) se dan en la figura. Las respuestas observadas (medias de 200 replicas) corresponden a las líneas continuas, y las respuestas predichas a las líneas con puntos remarcados. La figura muestra claramente que para intensidades de selección relativamente bajas o medias ($P = 50\%$ o $P = 33\%$) las respuestas predichas y observadas son similares (las dos líneas se sobreponen). Cuando la intensidad de selec-

ción es relativamente alta ($P = 15\%$), las predicciones son menos precisas. Los valores de la potencia del test para detectar la respuesta a la selección por reducción de varianza (respuesta en S^2) en los tres diseños y para las tres presiones de selección se muestran en la tabla 1. La potencia aumenta con la intensidad de selección y con la duración del experimento de selección para los tres diseños. La selección divergente (D3) es la más eficiente seguida del diseño con solo

una línea de selección (D1) y del diseño con dos líneas una seleccionada y otra control. Para D3, la potencia es del 80% después de 6 generaciones con presiones de selección alta e intermedia. Para D1, las potencias son aceptables a partir de la 7 generación y con intensidad de selección alta. La potencia para detectar respuesta en D2 es de 82%, después de 10 generaciones y solo en el caso de aplicar una alta intensidad de selección.

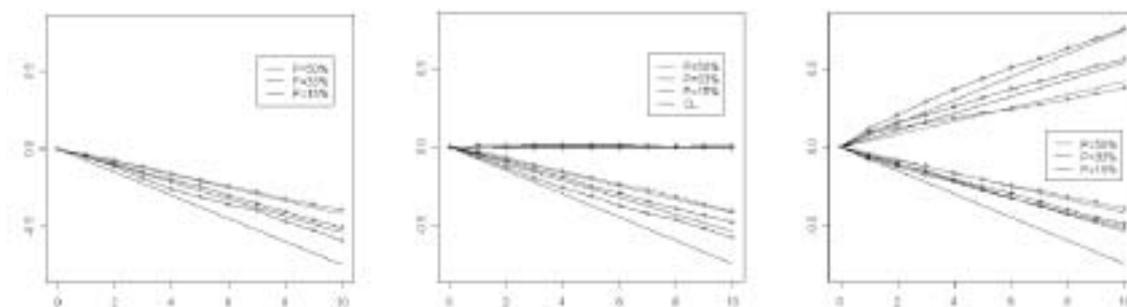


Figura 1. Respuesta a la selección para diferentes diseños de selección e intensidad de selección.
Figure 1. Response to selection for different selection design and selection intensity.

Tabla 1. Potencia del test
Table 1. Power of the test

T	P = 50%			P = 33%			P = 15%		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
1	0.01	0.03	0.04	0.02	0.03	0.06	0.04	0.02	0.06
3	0.05	0.07	0.23	0.04	0.09	0.30	0.13	0.13	0.39
5	0.08	0.13	0.54	0.16	0.22	0.65	0.22	0.28	0.71
7	0.21	0.21	0.67	0.41	0.28	0.80	0.44	0.38	0.91
10	0.45	0.37	0.83	0.62	0.46	0.96	0.77	0.49	1.00

D1, D2 y D3 corresponden a un experimento con una línea de selección, a un experimento con una línea de selección y otra control, y a un experimento de selección divergente, respectivamente.

Conclusiones

Se desarrollo una expresión para predecir la respuesta a la selección por varianza y se estudio su validez usando simulación. Las respuestas predichas son satisfactorias cuando la intensidad de selección no es muy alta. También se estudio la potencia de test para detectar la respuesta a la selección por la varianza, usando una estructura familiar determinada y usando tres diseños de selección. En este estudio se muestra que al menos son necesarias 7 generaciones de selección para que la probabilidad de la detección de la respuesta sea aceptable. La selección divergente es el mejor diseño, seguido del diseño de una sola línea de selección.

Si se mantuviera la media estable mientras se intenta controlar la varianza, se necesitaría realizar un experimento de mayor tamaño para obtener una adecuada potencia. Desde un punto de vista de genética cuantitativa, es deseable entender la evolución de σ_a^2 y de $\sigma_{a^*}^2$ bajo el modelo presentado, así

como la evolución de S^2 . Actualmente estamos trabajando en el desarrollo de estos temas.

Bibliografía

- Ros M, Sorensen D, Waagepetersen R, Dupont-Nivet M, SanCristobal M, Bonnet JC, Mallard RJ, 2004. Evidence for genetic control of adult weight plasticity in the snail *helix aspersa*. *Genetics*, 168: 2089-2097.
- Queitsch C, Sangster TA, Lindquist S, 2002. Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation. *Nature*. 417: 618-624.
- SanCristobal M, Elsen JM, Bodin L, Chevalet C, 1998. Prediction of the response to a selection for canalisation of a continuous trait in animal breeding. *Genet. Sel. Evol.* 30: 423-451.
- Sorensen D, Waagepetersen R, 2003. Normal linear models with genetically structured residual variance heterogeneity: a case study. *Genet. Res.* 82: 207-222.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

¿Es razonable un residuo simétrico?

L. Varona, N. Ibáñez, R.N. Pena, J.L. Noguera, R. Quintanilla

Àrea de Producció Animal. Centre UdL-IRTA. Av. Rovira Roure 191. 25198. Lleida.

E-mail: Luis.Varona@irta.es

Resumen

Los modelos estadísticos habituales en la evaluación genética de reproductores asumen distribuciones simétricas para todos los parámetros aleatorios. En los últimos años se ha producido un desarrollo teórico de distribuciones asimétricas. El objetivo de este trabajo es estudiar la adecuación de las distribuciones asimétricas para modelizar el carácter tamaño de camada en porcino. Para ello, se han analizado 2.072 datos de número de lechones nacidos vivos, producidos por 657 cerdas y con una genealogía disponible de 765 triada de individuo-padre-madre. En todos los análisis se incluyeron en el modelo los efectos orden de parto y rebaño-año-estación como efectos sistemáticos, y los efectos genético aditivo y ambiental permanente como efectos aleatorios con distribución normal. Para los efectos residuales se consideraron tres distribuciones diferentes: 1) Normal simétrica, 2) Normal asimétrica y 3) *t* asimétrica. Los tres modelos estadísticos se compararon mediante un Factor de Bayes. El modelo más adecuado correspondió a la distribución Normal asimétrica (Modelo 2). La media posterior de la heredabilidad fue 0.063, con una desviación estándar posterior de 0.028. La distribución de residuos obtenida fue fuertemente asimétrica, indicando que las fuentes de variación no controladas por el modelo tuvieron, en su mayor parte, una influencia negativa sobre la prolificidad.

Palabras clave: Evaluación genética, inferencia bayesiana, distribuciones asimétricas, prolificidad

Summary

¿Why residuals are symmetric in genetic evaluation?

Statistical models for genetic evaluation make use of Gaussian or *t* residual distributions. However, some new statistical development allows using asymmetric distribution for the residual not controlled by the model. We have analysed a data set of litter size on pigs consisting of 2072 data for number of piglets born alive from 657 sows, with a total pedigree of 765 individual-sire-dam triplets. The model includes order of parity and herd-year-season systematic effects, Gaussian additive genetic effects and Gaussian permanent environmental effects. In addition, we use three different distributions for the residuals. 1) Symmetric Gaussian distribution, 2) Asymmetric Gaussian distribution and 3) Asymmetric *t* distribution. The three statistical models were compared using a Bayes Factor. The most suitable model corresponds to the asymmetric Gaussian distribution (Model 2). The posterior mean of heritability was 0.063, with a posterior standard deviation of 0.028. The resulting distributions of the residuals are strongly asymmetric, indicating that the sources of variation not controlled by the model have mostly a negative influence on the prolificacy. The asymmetry parameter can be understood as a measure of sensibility to negative environmental influences on the phenotype.

Key words: Genetic evaluation, bayesian inference, asymmetric distributions, prolificacy

Introducción

Los modelos habituales de evaluación de reproductores asumen generalmente un modelo donde los efectos desconocidos se distribuyen mediante una distribución normal (Henderson, 1984). Esta asunción implica que los efectos no controlados por el modelo son muchos y de pequeña magnitud, y convergen hacia la distribución normal por el teorema central del límite. Strandén y Gianola (1999) propusieron sustituir la distribución normal por una distribución más robusta como la distribución **t**, que permite la presencia de valores más extremos y evita el sesgo provocado por el tratamiento preferencial.

Tras generaciones de selección, las poblaciones productivas de las especies domésticas han incrementado su potencial genético considerablemente. Por lo tanto, bajo condiciones ambientales adecuadas, producen rendimientos que resultaban impensables antes de la selección. Dado su patrimonio genético, es difícil imaginar un fuerte incremento productivo causado por efectos no contemplados en el modelo, pero por el contrario resulta sencillo pensar en múltiples causas que conlleven una reducción drástica del rendimiento (patologías, olas de calor o de frío, estrés, etc.). Este razonamiento nos sugiere que un modelo que contemple residuos de naturaleza asimétrica posiblemente pueda ser más apropiado como modelo de evaluación de reproductores.

En los últimos años se han desarrollado varios procedimientos de modelización de distribuciones no simétricas (Fernández et al., 1998; Sahu et al., 2003; Jara y Quintana, 2005). En este trabajo se presenta una evaluación de modelos con residuos asimétricos con datos de prolificidad en porcino.

Material y métodos

Se han utilizado 2.072 datos de prolificidad (número de lechones nacidos vivos) producidos por 657 cerdas de una población comercial de selección con una media fenotípica de 8.59. Se utilizó una genealogía consistente en 765 tríadas individuo-padre-madre. Los datos fueron distribuidos en 6 órdenes de parto (1º, 2º, 3º, 4º, 5º y 6º o superior), y en 43 efectos rebaño-año-estación.

Los datos se analizaron utilizando el siguiente modelo animal:

$$y = \mathbf{X}\beta + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \mathbf{Z}\mathbf{p} + \mathbf{e}$$

Donde se incluyeron los efectos orden de parto y rebaño-año-estación como efectos sistemáticos (β), además de los efectos genético aditivo (\mathbf{u}) y ambiental permanente (\mathbf{p}). Las distribuciones *a priori* de los efectos sistemáticos se asumieron uniformes acotadas, y las distribuciones de los efectos genético aditivo y ambiental permanente se asumieron normales multivariantes.

Además, se contemplaron tres distribuciones distintas para el residuo:

1) Distribución normal simétrica:

$$y \sim N(\mathbf{X}\beta + \mathbf{Z}\mathbf{u}, \mathbf{I}\sigma_e^2)$$

2) Distribución normal asimétrica:

$$y \sim SN(\mathbf{X}\beta + \mathbf{Z}\mathbf{u}, \mathbf{I}\sigma_e^2, \lambda)$$

3) Distribución **t** asimétrica:

$$y \sim ST_v(\mathbf{X}\beta + \mathbf{Z}\mathbf{u}, \mathbf{I}\sigma_e^2, \lambda)$$

Los modelos se compararon mediante un Factor de Bayes para modelos jerárquicos (García-Cortés et al., 2001; Varona et al., 2001).

Resultados

Los resultados de la comparación de modelos se presentan en la tabla 1. Puede obser-

vare que el Factor de Bayes entre los modelos que asumieron distribuciones asimétricas en el residuo (modelos 2 y 3) y el modelo habitual de evaluación de reproductores (modelo 1) tomó valores superiores a 10^{44} .

El factor de Bayes entre los modelos con residuos normales asimétricos (modelo 2) y t asimétricos (modelo 3) no fue relevante, aunque favoreció levemente al modelo normal asimétrico.

Tabla 1. Factor de Bayes entre los tres modelos (a) comparados con distinta distribución para el efecto residual

Table 1. Bayes Factor comparison between the three models (a) with different residual distributions

	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3
Modelo 1	1.00	4.89×10^{-43}	7.41×10^{-43}
Modelo 2	2.04×10^{44}	1.00	1.51
Modelo 3	1.35×10^{44}	0.66	1.00

(a) Modelo 1: distribución normal simétrica; Modelo 2: distribución normal asimétrica; Modelo 3: distribución t asimétrica.

La tabla 2 muestra un resumen de las distribuciones marginales posteriores de los parámetros de dispersión bajo el modelo 2. La heredabilidad posterior tomó valores entorno al 6%. La media posterior del parámetro de asimetría (λ) fue considerablemente negativa (-2.81), con una desviación posterior de 0.2. La distribución de los efectos residuales condicionados a las medias

posteriores de la varianza residual (σ_e^2) y el parámetro de asimetría (λ) se presenta en la figura 1. En dicha figura se aprecia que la distribución obtenida para los residuos fue fuertemente asimétrica, indicando que la fuentes de variación no controladas por el modelo tuvieron, en su mayor parte, una influencia negativa sobre la prolificidad.

Tabla 2. Medias Posterior (MP) y Desviaciones Estándar Posterior (DSP) de los parámetros de dispersión (a) bajo el modelo con distribución normal asimétrica para el residuo (modelo 2)
Table 2. Posterior means (MP) and Posterior Standard Deviations of the variance components (a) under the model with a Gaussian Asymmetry Distribution

	σ_a^2	σ_p^2	σ_e^2	h^2	λ
MP	0.425	0.622	2.876	0.063	-2.808
DSP	0.196	0.212	0.366	0.028	0.200

(a) σ_a^2 : varianza genética aditiva; σ_p^2 : varianza ambiental permanente; σ_e^2 : varianza residual; λ : parámetro de asimetría de la distribución de los efectos residuales; h^2 : heredabilidad.

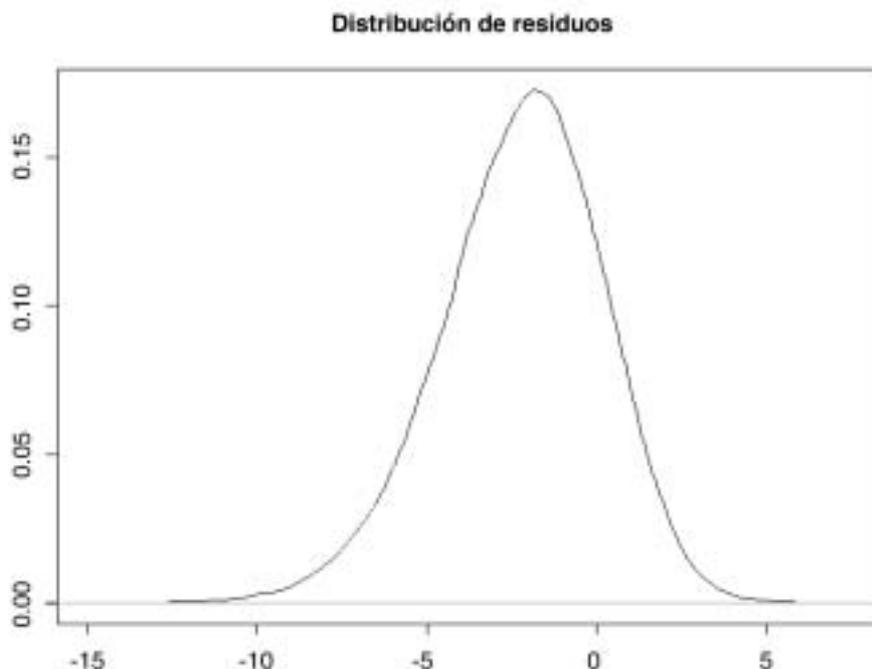


Figura 1. Distribución de los efectos residuales condicionados a las medias posteriores de la varianza residual (σ_e^2) y el parámetro de asimetría (λ).

Figure 1. Residual Distribution conditioned to the posterior means of the residual variance (σ_e^2) and the asymmetry parameter (λ).

Discusión

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que, en la población analizada, los modelos con distribuciones asimétricas son más apropiados para la evaluación genética del carácter tamaño de camada. La comparación de los dos modelos con distribución asimétrica para los residuos no permite concluir de un modo taxativo cual es el más adecuado. De todas formas, sí parece que el modelo con distribución normal asimétrica, menos parametrizado, sería ligeramente más probable.

La distribución posterior obtenida corrobora la hipótesis previamente planteada sobre la distribución asimétrica negativa de los

residuos, los cuales recogerían aquellos factores no sistemáticos y de origen no genético que comportan una reducción de las producciones, como pudiera ser una eventual patología o una situación de estrés. En este sentido, la aplicación de modelos con residuos asimétricos en procesos de evaluación genética evitaría la penalización de aquellos reproductores que hayan podido sufrir una eventualidad de origen ambiental que determine un menor rendimiento, así como la penalización de sus parientes, al permitir residuos de mayor magnitud en sentido negativo.

Los resultados obtenidos para la heredabilidad (tabla 2) fueron similares a los obtenidos en otros trabajos sobre prolificidad en

porcino (Noguera et al., 2002), quedando comprobado que el uso de una distribución asimétrica influye en la predicción de los valores mejorantes pero no modifica sustancialmente los resultados en términos de heredabilidad.

Además, el modelo con distribuciones asimétricas ofrece información adicional. Por una parte, las estimas de los efectos sistemáticos están referidas a la potencialidad productiva en esa combinación ambiental. Por otra parte, el parámetro de asimetría se puede interpretar como la pérdida de producción debida a causas ambientales direccionales.

Señalaremos, finalmente, que una posible extensión del modelo consiste en la introducción de una jerarquía en el parámetro de asimetría (λ), permitiendo que éste varíe entre efectos sistemáticos e incluso entre individuos. Esta modelización permitirá obtener valores mejorantes para la sensibilidad de los individuos ante las influencias ambientales direccionales.

Bibliografía

- Fernández C, Steel MFJ, 1998. On bayesian modelling of fat tails and skewness. *JASA* 93: 359-371.
- García-Cortés LA, Cabrillo C, Moreno C, Varona L, 2001. Hypothesis testing for the genetic background of quantitative traits. *Genetics Selection Evolution* 33: 3-16.
- Henderson CR, 1984. *Applications of Linear Models in Animal Breeding*. University of Guelph.
- Jara A, Quintana F, 2005. Linear effects mixed models with skew-elliptical distributions: A Bayesian approach. Technical Report. y Quintana, 2005.
- Noguera JL, Varona L, Babot D, Estany J, 2002. Multivariate analysis of litter size for multiple parities with production traits in pigs. *J. Anim. Sci.* 80: 2540-2547.
- Sahu SK, Dey DK, Branco MD, 2003. A new class of multivariate skew distributions with applications to bayesian regression models. *The Canadian Journal of Statistics* 31: 129-150. et al., 2003.
- Stranden I, Gianola D, Mixed effects linear models with t-distributions for quantitative genetics analysis: a Bayesian approach. *Genetics Selection Evolution* 31: 25-42.
- Varona L, García-Cortés LA, Perez-Enciso M, 2001. Bayes Factor for detection of Quantitative Trait Loci. *Genetics Selection Evolution* 33: 133-152.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Análisis del ajuste de los modelos de riesgos proporcionales mediante bootstrap paramétrico

J. Casellas*, J. Tarrés*,***, J. Piedrafita*, L. Varona**

* Grup de Recerca en Remugants, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, España. Correspondencia: teléfono: 93 581 13 99; e-mail: joaquim.casellas@uab.es

** Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, 25198 Lleida, España.

*** Dirección actual: VIT, Heidewerg 1, D-27283 Verden, Alemania.

Resumen

Resulta complicado evaluar el ajuste de los modelos de riesgos proporcionales dado que los tests disponibles actualmente, en su mayoría gráficos, adolecen de un importante grado de subjetividad. En este sentido, hemos desarrollado un procedimiento de bootstrap paramétrico para testar el ajuste de los modelos de supervivencia. El procedimiento se fundamenta en la generación de réplicas de la base de datos mediante simulaciones de Monte Carlo a partir de las estimaciones obtenidas para los diferentes parámetros de cada modelo, y la subsiguiente delimitación de los intervalos de bootstrap para la supervivencia estimada mediante Kaplan-Meier a lo largo del espacio paramétrico estudiado. Las deficiencias de ajuste se evidencian cuando la supervivencia real no se encuentra dentro del intervalo de bootstrap. Este procedimiento se contrastó sobre datos de supervivencia hasta el destete de terneros de raza *Bruna dels Pirineus*, asumiendo cuatro distribuciones paramétricas de riesgo base distintas (exponencial, Weibull, exponencial dependiente del tiempo y Weibull dependiente del tiempo) así como el modelo semiparamétrico de Cox. En este contexto, los modelos exponencial dependiente del tiempo y Cox no mostraron desajustes significativos, al contrario que los tres modelos restantes. Dadas las ventajas computacionales de los modelos paramétricos, el modelo exponencial dependiente del tiempo parece preferible para el análisis de la supervivencia de los terneros de raza *Bruna dels Pirineus*.

Palabras clave: Ajuste de modelos, Bootstrap paramétrico, Longevidad, Riesgos proporcionales, Supervivencia

Summary

Analysis of proportional hazards models fitting with parametric bootstrap

It is difficult to test the fitting of proportional hazards models because the available tests, mainly graphical tests, suffer from a substantial degree of subjectivity. In this sense, we developed a parametric bootstrap procedure to test the fitting of survival models based on the simulation of data set replicates through Monte Carlo simulation and taking as starting point the estimates previously obtained for the parameters of each model. Bootstrap intervals for the Kaplan-Meier survival estimate were established along the parametric space analyzed. Significant fitting deficiencies were revealed when the observed survival was not included within the bootstrapped interval. This approach was tested on a survival data set of *Bruna dels Pirineus* beef calves, assuming four different parametric baseline hazard functions (exponential, Weibull, exponential time-dependent and Weibull time-dependent) and the Cox's semiparametric model. Within this context, exponential time-dependent and Cox's models did not show significant deviations, whereas the remaining ones suffered from important over and underestimations of the reference statistic. Given the lower computational

requirements of parametric models, the exponential time-dependent one seemed preferable for the analysis of *Bruna dels Pirineus* calves survival.

Key words: Model fitting, Parametric bootstrap, Longevity, Proportional hazards, Survival

Introducción

La supervivencia o longevidad de los animales son caracteres de interés para los ganaderos tanto desde un punto de vista económico como de bienestar animal (VanRaden y Wiggans, 1995; Scientific Veterinary Committee, 1997). Las técnicas de análisis de supervivencia (Cox, 1972; Prentice y Gloeckler, 1978; Ducrocq *et al.*, 1988a,b) resultan preferibles para el estudio de la longevidad del ganado ya que tienen en cuenta la continuidad del proceso de mortalidad y permiten la inclusión de registros censurados para aquellos animales con fecha de baja desconocida. Durante las últimas décadas se han desarrollado tanto aproximaciones paramétricas (Famula, 1981; Wolynetz y Binns, 1983; Ducrocq *et al.*, 1998a,b) como no paramétricas (Cox, 1972; Prentice y Gloeckler, 1978), con importantes diferencias en cuanto a su flexibilidad y demandas computacionales, lo cual evidencia la importancia de una elección acertada del modelo de análisis. Desafortunadamente existen sólo unos pocos tests gráficos para evaluar el ajuste de los modelos de supervivencia (Ducrocq *et al.*, 2000), los cuales resultan muy subjetivos y no son aplicables cuando los datos se ven afectados por variables dependientes del tiempo (Tarrés *et al.*, 2005).

En este contexto, hemos desarrollado un procedimiento de bootstrap paramétrico para contrastar el ajuste de los modelos de supervivencia, tomando la función de supervivencia empírica de Kaplan-Meier

(Kaplan y Meier, 1958) como función de referencia. Nuestra metodología determina de manera precisa el ajuste del modelo a lo largo del tiempo, estableciéndose intervalos de bootstrap para cada punto temporal. Este método ha sido comprobado en una base de datos de supervivencia de terneros de raza *Bruna dels Pirineus*, asumiendo diferentes distribuciones para la función de riesgo base.

Material y Métodos

Bootstrap paramétrico

Los métodos bootstrap se usan de manera rutinaria para aproximar la distribución de cualquier estadístico de interés (π). Desde un punto de vista paramétrico, el procedimiento de bootstrap consiste en tres pasos característicos: a) definición del modelo asumido para los datos, b) re-muestreo mediante simulación de Monte Carlo y cálculo del estadístico π , y c) construcción de la distribución de bootstrap de π . En el caso de los modelos de riesgos proporcionales, el procedimiento se fundamenta en definir uno o varios modelos de partida, obtener las estimaciones referentes a los parámetros y efectos considerados en esos modelos, y simular nuevos registros de longevidad (T_i) los cuales, en el caso de un modelo Weibull o exponencial ($\rho = 1$) se pueden generar a partir de (Press *et al.*, 1992):

$$T_i = \left(-\frac{\ln(1-\alpha)}{\exp[\hat{\rho} \ln(\hat{\lambda}) + \mathbf{w}_i \hat{\theta}]} \right)^{\frac{1}{\hat{\rho}}}$$

dónde α es un valor aleatorio generado a partir de una distribución uniforme entre 0 y 1, $\hat{\rho}$ y $\hat{\lambda}$ son los parámetros estimados para la distribución Weibull base, $\hat{\theta}$ es el vector de coeficientes de regresión y \mathbf{w}_i es el vector de incidencias para un registro i determinado. En el caso de modelos no paramétricos o con efectos dependientes del tiempo será necesario aplicar un método de simulación recurrente (Casellas et al., 2006). Finalmente, los límites del intervalo de bootstrap se establecen generalmente en los percentiles 0,025 y 0,975.

Bootstrap sobre modelos de supervivencia de terneros de raza Bruna dels Pirineus

El procedimiento de bootstrap paramétrico se aplicó sobre una base de datos de supervivencia hasta el destete de terneros de raza *Bruna dels Pirineus*, previamente analizada por Tarrés et al. (2005). En total constaba de 2.504 registros de supervivencia tomados entre los años 1994 y 2002 en tres explotaciones comerciales pertenecientes al Programa de Control de Rendimientos de la *Bruna dels Pirineus*. Se consideraron los cinco modelos definidos por Tarrés et al. (2005) (exponencial, Weibull, exponencial dependiente del tiempo, Weibull dependiente del tiempo y Cox con la aproximación de Tsiatis (1981) así como las estimaciones obtenidas para los parámetros y los efectos incluidos en el modelo (ver Tarrés et al. [2005] para una descripción detallada de los modelos y resultados obtenidos). Adicionalmente, se asumieron censurados todos los registros

referentes a terneros destetados, aproximadamente a los 180 días de edad.

Referente al procedimiento de bootstrap, se efectuaron un total de 10.000 re-muestrados de la base de datos para cada modelo asumido, calculándose la función de supervivencia mediante Kaplan-Meier entre los 0 y los 180 días de edad para cada iteración de simulación.

Resultados y Discusión

Los modelos exponencial y Weibull mostraron desviaciones significativas con importantes sobre y subestimaciones durante los primeros días y los últimos cuatro meses antes del destete (figuras 1 y 2). En concreto, el modelo exponencial sobreestimó la supervivencia desde el día 7 al 45, con una posterior subestimación a partir del día 79. El modelo Weibull alcanzó un ajuste ligeramente mejor aunque con subestimaciones significativas durante la primera semana y a partir del día 61. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Tarrés et al. (2005) sobre la misma base de datos y mediante tests gráficos, y son un ejemplo representativo de la flexibilidad relativa de los modelos paramétricos (Allison, 1995; Kleinbaum, 1996). Ambos modelos parecen sufrir sesgos menores durante las primeras semanas, probablemente relacionados con una mayor concentración de registros completos de longevidad, los cuales aportan una cantidad de información substancial al modelo.

El modelo exponencial dependiente del tiempo mostró un ajuste aceptable, sin desviaciones significativas a ninguna edad. La situación cercana al límite inferior del intervalo de bootstrap de las estimaciones de la función empírica de supervivencia de Kaplan-Meier (figura 3) podría sugerir

algún ligero sesgo en el modelo, aunque éste no alcanzó en ningún caso el umbral de significación. Por otro lado, el modelo Weibull dependiente del tiempo presentó ligeros sesgos entre los días 15 y 102 (figura 4). Estos resultados ponen de manifiesto que el ajuste de modelos de supervivencia paramétricos puede ser fácilmente mejorado con la simple incorporación de efectos dependientes del tiempo, tal como sugirieron Yazdi *et al.* (2002) y Tarrés *et al.* (2005).

Tal como era esperable, el modelo semiparamétrico de Cox (1972) obtuvo el mejor ajuste, con la función Kaplan-Meier obser-

vada discurrendo aproximadamente en el punto medio entre los límites del intervalo de bootstrap. No obstante, esta elevada flexibilidad para ajustar distribuciones empíricas de supervivencia conlleva también unas demandas computacionales de consideración (ver Ducrocq *et al.* [2000] como ejemplo). En este sentido, la disponibilidad de modelos paramétricos con un ajuste aceptable adquiere una enorme importancia, sobre todo para el análisis de bases de datos grandes donde las diferencias en tiempo de computación pueden llegar a resultar prohibitivas.

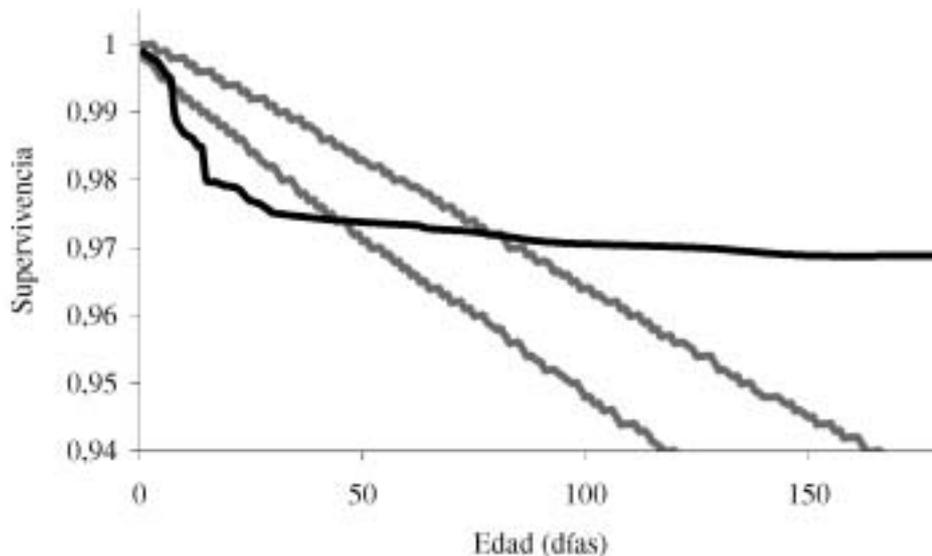


Figura 1. Función de supervivencia de Kaplan-Meier (línea negra) y límites del intervalo de bootstrap (líneas grises) para el modelo exponencial de supervivencia.

Figure 1. Kaplan-Meier survival function (black line) and bootstrap interval bounds (grey lines) for the exponential survival model.

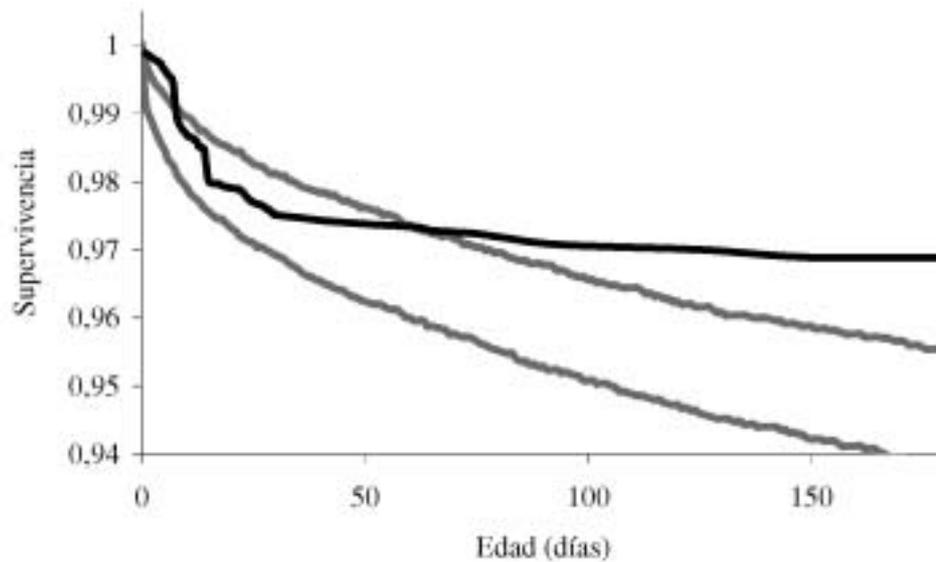


Figura 2. Función de supervivencia de Kaplan-Meier (línea negra) y límites del intervalo de bootstrap (líneas grises) para el modelo Weibull de supervivencia.

Figure 2. Kaplan-Meier survival function (black line) and bootstrap interval bounds (grey lines) for the Weibull survival model.

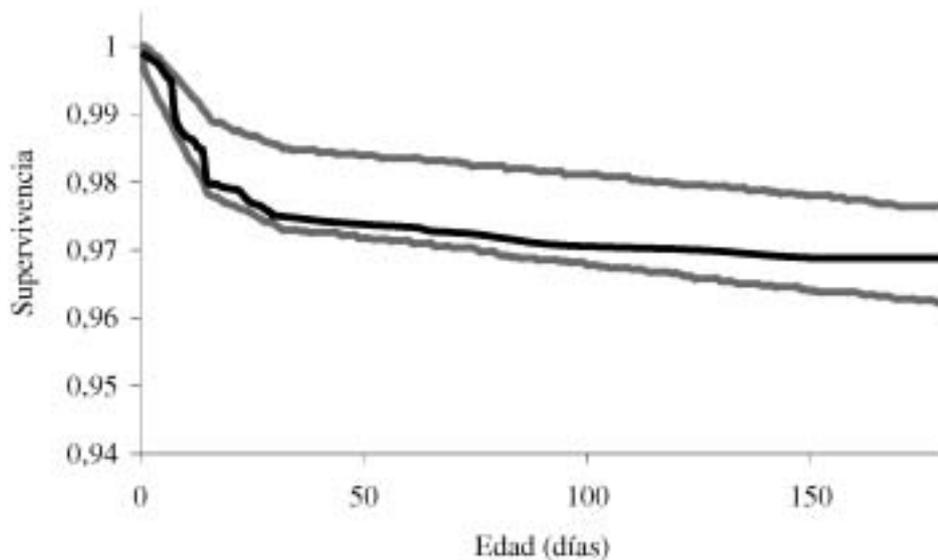


Figura 3. Función de supervivencia de Kaplan-Meier (línea negra) y límites del intervalo de bootstrap (líneas grises) para el modelo de supervivencia exponencial dependiente del tiempo.

Figure 3. Kaplan-Meier survival function (black line) and bootstrap interval bounds (grey lines) for the exponential time-dependent survival model.

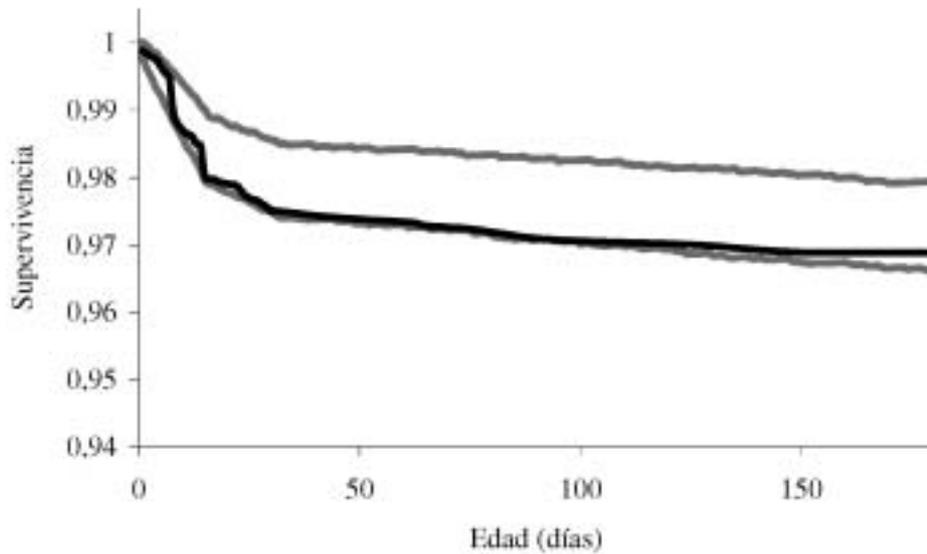


Figura 4. Función de supervivencia de Kaplan-Meier (línea negra) y límites del intervalo de bootstrap (líneas grises) para el modelo de supervivencia Weibull dependiente del tiempo.

Figure 4. Kaplan-Meier survival function (black line) and bootstrap interval bounds (grey lines) for the Weibull time-dependent survival model.

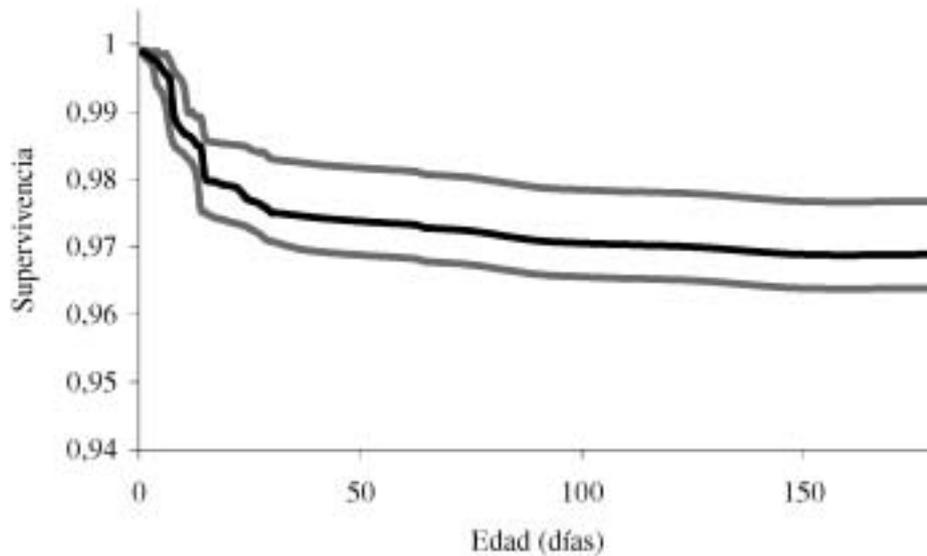


Figura 5. Función de supervivencia de Kaplan-Meier (línea negra) y límites del intervalo de bootstrap (líneas grises) para el modelo de supervivencia de Cox.

Figure 5. Kaplan-Meier survival function (black line) and bootstrap interval bounds (grey lines) for the Cox survival model.

Agradecimientos

Los registros de supervivencia de los terneros han sido tomados por las explotaciones *La Tria, Vallnova-Espanholet y Mas Fogone-lla*, dentro del Programa de Control de Rendimientos y Mejora Genética de la raza *Bruna dels Pirineus*, financiado por el *Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya*.

Bibliografía

- Allison PD, 1995. Survival Analysis Using the SAS® System. A Practical Guide. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Casellas J, Tarrés J, Piedrafita J, Varona L, 2006. Paramètric bootstrap for testing model fitting in the proporcional hazards framework: An application to the survival analysis of *Bruna dels Pirineus* beef calves. *J. Anim. Sci.* (en prensa).
- Cox DR, 1972. Regression models and life tables (with discussion). *J. Royal Stat. Soc. Series B* 34: 187-220.
- Ducrocq V, Besbes B, Protais M, 2000. Genetic improvement of laying hens viability using survival analysis. *Genet. Sel. Evol.* 32: 23-40.
- Ducrocq V, Quaas RL, Pollak EJ, Casella G, 1988a. Length of productive life of dairy cows. I. Justification of a Weibull model. *J. Dairy Sci.* 71: 3061-3070.
- Ducrocq V, Quaas RL, Pollak EJ, Casella G, 1988b. Length of productive life of dairy cows. II. Variance component estimation and sire evaluation. *J. Dairy Sci.* 71: 3071-3079.
- Famula TR, 1981. Exponential stayability model with censoring and covariates. *J. Dairy Sci.* 64: 538-545.
- Kaplan EL, Meier P, 1958. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J. Amer. Stat. Assoc.* 53: 457-481.
- Kleinbaum DG, 1996. *Survival Analysis: A Self-Learning Text*. Springer Verlag, NY.
- Prentice RL, Gloeckler LA, 1978. Regression analysis of grouped survival data with application to breast cancer data. *Biometrics* 34: 57-67.
- Press WH, Teukolsky SA, Vetterling WT, Flannery BP, 1992. *Numerical Recipes in Fortran 77. The Art of Scientific Computing*. Vol. 1, Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- Scientific Veterinary Committee. 1997. *The Welfare of Intensively Kept Pigs*. European Commission, Brussels.
- Tarrés J, Casellas J, Piedrafita J, 2005. Genetic and environmental factors influencing mortality up to weaning of *Bruna dels Pirineus* beef calves in mountain areas. A survival analysis. *J. Anim. Sci.* 83: 543-551.
- Tsiatis AA, 1981. A large simple study of Cox's regression model. *Ann. Stat.* 9: 93-108.
- VanRaden PM, Wiggans GR, 1995. Productive life evaluation: Calculation, accuracy, and economic value. *J. Dairy Sci.* 78: 631-638.
- Wolynetz MS, Binns MR, 1983. Stayability of dairy cattle: models with censoring and covariates. *J. Dairy Sci.* 66: 935-942.
- Yazdi MH, Visscher PM, Ducrocq V, Thompson R, 2002. Heritability, reliability of genetic evaluations and response to selection in proportional hazards models. *J. Dairy Sci.* 85: 1563-1577.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Estimaciones preliminares de heredabilidades para caracteres de crecimiento en dorada (*Sparus auratus* L.)

A. Navarro^{*,****}, M.J. Zamorano^{*}, M.A. Pérez-Cabal^{**}, O. González-Recio^{**}, C. Mazorra^{***}, R. Ginés^{*}, J.M. Afonso^{*}

* División de Acuicultura y Genética Marina. Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña s/n, 35416 – Arucas, Spain.

** Departamento de Producción Animal - E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.

*** Tinamenor SA. Marismas de Pesués nº7. CP 39548 – Pesués. Cantabria.

**** Autor a quien hay que dirigir la correspondencia: Tel.: 928451112; Fax.: 928451142; e-mail: ana.navarro104@doctorandos.ulpgc.es. Ana Navarro y Guerra del Río. División de Acuicultura y Genética Marina. Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria. C/. Trasmontaña s/n - 35416 - Arucas. Las Palmas – Spain

Resumen

En este estudio se estimaron las heredabilidades para el peso y la longitud a distintas edades, en doradas procedentes de un lote industrial. Se utilizó una muestra de 300 descendientes provenientes de una puesta masal de 15 padres y 22 madres. La genealogía se estimó mediante la caracterización de todos los peces para 6 marcadores microsatélites, cinco específicos de dorada (*Sparus auratus* L.) (SaGT41a, SaGT41b, SaGT31, SaGT32, SaGT26) y uno descrito en besugo (*Pagellus bogaraveo*) (PbMS2). Para el análisis de los datos se utilizó un modelo animal considerando como efectos fijos el tanque y el sistema de cultivo (intensivo o mesocosmos). Las estimas de las heredabilidades fueron $0,25\pm 0,08$, $0,29\pm 0,09$, $0,29\pm 0,09$, $0,20\pm 0,08$ para el peso a la edades de 132, 167, 331 y 483 días, respectivamente. Para estas mismas edades, las heredabilidades para la longitud fueron $0,36\pm 0,09$, $0,37\pm 0,10$, $0,21\pm 0,08$, $0,21\pm 0,09$, respectivamente.

Palabras clave: Heredabilidad, crecimiento, microsatélite, dorada, *Sparus auratus*

Summary

Preliminary estimates of heritabilities for growth traits in gilthead seabream (*Sparus auratus* L.)

In this study, the heritabilities for weight and length at different ages, in gilthead seabream from the industry, were estimated. A sample of 300 offspring from 15 sires and 22 dams were analyzed. The genealogy was inferred using six microsatellite markers, five specific of gilthead seabream (*Sparus auratus* L.) (SaGT41a, SaGT41b, SaGT31, SaGT32, SaGT26) and one unspecific from *Pagellus bogaraveo* (PbMS2). An animal model was applied on data base using as fixed factors tank and culture system (intensive or mesocosms). The estimates of heritabilities were 0.25 ± 0.08 , 0.29 ± 0.09 , 0.29 ± 0.09 , 0.20 ± 0.08 , for weight at days 132, 167, 331 and 483 respectively. Also for these ages, the estimates of heritabilities for length were 0.36 ± 0.09 , 0.37 ± 0.10 , 0.21 ± 0.08 , 0.21 ± 0.09 respectively.

Key words: Heritability, growth, microsatellite, gilthead seabream, *Sparus auratus*

Introducción

Actualmente existen programas de mejora en piscicultura que están siendo llevados a cabo en distintas especies y países, tanto de carácter público como privado, si bien su número sigue siendo escaso (Gjedrem, 1997). A pesar de las diferencias biológicas y de mercado entre las distintas especies, los programas comparten como objetivos, susceptibles de mejora, aquellos relacionados con el crecimiento, la presencia de deformidades, la calidad de la carne y la resistencia a enfermedades. En general, los valores de heredabilidad de estos caracteres en peces son buenos, oscilando desde estimas bajas en los relacionados con la calidad de la carne (Gjerde y Gjedrem, 1984; Rye y Gjerde, 1996; Quinton *et al.*, 2005), hasta valores muy altos para los referidos a la presencia/ausencia de deformidades (Mckay y Gjerde, 1986; Astorga *et al.*, 2004; Gjerde *et al.*, 2005). De todos los caracteres, los de crecimiento son los más importantes y para los cuales se producen considerables progresos genéticos en el seno de los programas de selección en curso (Gjerde, 1986; O'Flynn *et al.*, 1999).

La dorada es una de las especies de mayor interés dentro de la acuicultura mediterránea debido a su amplio rango de distribución geográfica y niveles de producción. Sin embargo, la implantación de programas de selección en dorada a escala industrial no es tan sencillo como en salmónidos, ya que para asegurar la calidad y volumen de sus alevines se realizan puestas masales a partir de lotes de reproductores que oscilan entre los 50 – 60 peces (Brown *et al.*, 2005). Esto ha dado lugar a que no existan prácticamente estimas de parámetros genéticos, salvo las realizadas por Knibb *et al.* (1998) para el peso, Montero *et al.* (2001) para el cortisol plasmático post-estrés de confinamiento y Astorga *et al.* (2004) para la presencia/ausencia de deformidades.

En este sentido, en el presente estudio se han estimado las heredabilidades de caracteres de crecimiento a partir de una muestra de los descendientes de un stock comercial de reproductores de dorada.

Materiales y métodos

Un lote de huevos procedentes del stock de reproductores de la empresa Tinamenor SA (San Vicente de la Barquera, Cantabria) fue sembrado en las instalaciones del Instituto Canario de Ciencias Marinas (Telde, Gran Canaria). Una vez se produjo la eclosión, las larvas fueron sometidas a dos sistemas de cultivo diferentes: intensivo y semi-intensivo, este último conocido como tecnología mesocosmos (Hernández-Cruz *et al.*, 1999). Después del periodo larvario los peces de ambas poblaciones se criaron bajo las mismas condiciones intensivas en tanques separados. A la edad de 132 días, una muestra de 137 peces provenientes del sistema intensivo y 244 del de mesocosmos se marcaron individualmente con *Passive Integrated Transponder* (PIT; Trovan Daimler-Benz) en la en cavidad abdominal, tal y como se describe en Navarro *et al.* (2004).

Los peces se repartieron en tres tanques de 1.000 l y se criaron bajo condiciones intensivas hasta alcanzar la talla comercial. A las edades de 132, 167, 331 y 483 días fueron pesados y medidos. El reparto del alimento se realizó mediante comederos de autodemanda utilizando piensos comerciales (Proaqua S.A., Dueñas, Palencia). La temperatura del agua osciló entre los $19,32 \pm 0,07^\circ\text{C}$ en marzo y los $24,97 \pm 0,08^\circ\text{C}$ en septiembre. El oxígeno disuelto y el flujo del agua fueron de $5,98 \pm 0,01$ ppm y de 21 l/min, respectivamente. Las densidades variaron desde los $2,26 \pm 0,083$ kg/m³ y los $35,01 \pm 1,74$ kg/m³ al inicio y al final del experimento, respectivamente.

Tanto los peces marcados con PIT como los reproductores de los que provenían, fueron caracterizados genéticamente con seis marcadores microsátélites, cinco específicos de dorada (SaGT41a, SaGT41b, SaGT31, SaGT32, SaGT26) (Batargias et al., 1999) y uno descrito en besugo (PbMS2) (Stockley et al., 2000). Para ello, se tomó un fragmento de tejido de la aleta caudal que fue conservado en 1 ml de etanol absoluto hasta su procesamiento. La extracción de ADN se realizó mediante el método del fenol-cloroformo (Sambrook et al., 1989), resuspendiéndose en 50ml de TE y conservándose a 4° C. Los microsátélites fueron amplificados en un termociclador *i-Cycler* (Bio-Rad), siguiendo las condiciones de amplificación descritas por Batargias et al. (1999) para los específicos de dorada, y Oliva et al. (2004) para el marcador PbMS2. Los productos de amplificación se analizaron en un secuenciador automático de ABI Prism® 3100 (Applied Biosystems, Foster, EE.UU.) y la determinación de sus tamaños se realizó mediante el programa Genotyper (versión 3.7). La inferencia de la genealogía se llevó a cabo mediante un programa desarrollado para tal efecto por el Dr. D. Jesús Fernández Martín (Dpto. de Mejora Genética Animal, INIA, Madrid).

Las estimas de las heredabilidades se determinaron a partir de una muestra de 300 individuos del grupo de peces marcados. Los reproductores que contribuyeron a la descendencia, a través de una puesta masal, fueron 15 padres y 22 madres. Se utilizó un modelo animal, considerando el tanque y el sistema de cultivo como efectos fijos y el animal como efecto aleatorio, mediante el programa VCE (v 5.1.2) (Kovač et al., 2002).

Resultados y discusión

A la edad de 132 días, el peso y longitud media de los peces fue de $4,90 \pm 0,08$ g y

$6,63 \pm 0,03$ cm, respectivamente, siendo a la de 167 días de $20,78 \pm 0,29$ g y $10,45 \pm 0,045$ cm. La elección de estas fechas para realizar los muestreos, y estimar ahí las heredabilidades en los dos caracteres, viene determinada porque suelen ser éstos los plazos medios en los cuales los alevines salen de las empresas de cría hacia las de engorde y donde éstas últimas completan la fase de preengorde previa a la reordenación de sus lotes de engorde y/o criba de deformes. Por su parte, a los 331 días, edad a la cual la incipiente maduración sexual (Zohar et al., 1978; Micale y Perdichizzi, 1990) puede interferir negativamente sobre el crecimiento (Ginés et al., 2003) (en este lote concreto se correspondió esa edad con la estación reproductiva), el peso y longitud media fue de $189,95 \pm 1,90$ g y $20,54 \pm 0,06$ cm, respectivamente. Finalmente, al alcanzar la talla comercial, a los 483 días de edad, peso y longitud fueron de $351,03 \pm 3,18$ g y $25,27 \pm 0,07$ cm, respectivamente.

Las estimas de las heredabilidades para el peso y la longitud a las distintas edades se presentan en la tabla 1. Como se aprecia, los rangos de variación estuvieron comprendidos entre 0,20 y 0,29 para el peso, y entre 0,21 y 0,37 para la longitud. En cuanto al peso, las estimas son ligeramente inferiores a la heredabilidad descrita por Knibb et al. (1998), si bien la estima de estos autores fue realizada después de una selección masal. Las correlaciones genéticas entre el peso y la longitud en todas las edades estuvieron comprendidas entre $0,94 \pm 0,04$ a la edad de 483 días, y $0,99 \pm 0,01$ a la edad de 132 días.

Las heredabilidades del presente estudio ponen de manifiesto que la dorada es una especie con una notable componente genética aditiva para los caracteres de crecimiento en momentos económicamente importantes para la industria. Máxime si se tiene en cuenta que han sido obtenidas según las

pautas de manejo que siguen las empresas, en el sentido de que los lotes de engorde se constituyen con individuos provenientes de varias familias. Gracias a esto, se elimina la fuente de parecido por ambiente común que genera la cría separada de las familias (Herbinger et al., 1999). Por todo ello, la

implantación de un programa de mejora genética en dorada puede ofrecer progresos genéticos comparables a los ya obtenidos en otras especies como salmón del Atlántico (Gjerde, 1986; O'Flynn et al., 1999), o el del salmón del Pacífico (Roberto Neira, comunicación personal).

Tabla 1. Estimaciones de heredabilidades para el peso y la longitud a distintas edades, en dorada
Table 1. Estimate of heritabilities for weight and length at different ages, in gilthead seabream

Edad	Carácter	Heredabilidad
132 días	Peso	0,25 ± 0,08
	Longitud	0,36 ± 0,09
167 días	Peso	0,29 ± 0,09
	Longitud	0,37 ± 0,10
331 días	Peso	0,29 ± 0,09
	Longitud	0,21 ± 0,08
483 días (sacrificio)	Peso	0,20 ± 0,08
	Longitud	0,21 ± 0,09

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer al personal del departamento de cultivos del Instituto Canario de Ciencias Marinas, su ayuda durante la cría de los peces, así como al Dr. Jesús Fernández Martín por su programa para determinación de parentesco. Este estudio fue financiado parcialmente por los proyectos PI-2002/212 del Gobierno de Canarias y ACU00-005 del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria.

Bibliografía

Astorga N, Zamorano MJ, Toro MA, García Cortés LA, Montero D, Afonso JM, 2004. Heredabilidad del carácter presencia o ausencia de deformaciones esqueléticas en dorada (*Sparus aurata* L.). *ITEA*. 100A, 3: 256-250.

Batargias C, Dermitzakis E, Magoulas A, Zouros E, 1999. Characterization of six polymorphic microsatellite markers in gilthead seabream, *Sparus aurata*. (Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology*. 8: 897-898.

Brown R, Woolliams JA, McAndrew BJ, 2005. Factors influencing effective populations of gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Aquaculture*. 247: 219-225.

Ginés R, Afonso JM, Argüello A, Zamorano MJ, López JL, 2003. Growth in adult gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) as a result of interference in sexual maturation by different photoperiod regimes. *Aquaculture Research*, 34, 1: 73-83.

Gjedrem T, 1997. Selective breeding to improve aquaculture production. *World Aquaculture*. 28: 33-45.

Gjerde B, 1986. Growth and reproduction in fish and shellfish. *Aquaculture*. 57, 1-4: 37-55.

Gjerde B, Gjedrem T, 1984. Estimates of phenotypic and genetic parameters for carcass traits

- in Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture*. 36: 97-110.
- Gjerde B, Pante MJ, Baeverfjord G, 2005. Genetic variation for a vertebral deformity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*. 244: 77-87.
- Herbinger CM, O'Reilly PT, Doyle RW, Wright JM, O'Flynn F, 1999. Early growth performance of Atlantic salmon full-sib families reared in single family tanks versus in mixed family tanks. *Aquaculture* 173: 105-116.
- Hernández-Cruz MC, Salhi M, Bessonart M, Izquierdo MS, González MM, Fernández-Palacios H, 1999. Rearing techniques for red pogy (*Pagrus pagrus*) during larval development. *Aquaculture*. 179: 489-497.
- Knibb W, Gorshkova G, Gorshkov S, 1998. Selection and crossbreeding in Mediterranean cultured marine fish (Review). *Cahiers Options Méditerranéennes*. 34: 47-60.
- Kovač M, Groeneveld E, García-Cortés LA, 2002. VCE-5: A package for the optimization of dispersion parameters. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France. August 20-23.
- McKay L, Gjerde B, 1986. Genetic variation for a spinal deformity in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*. 52: 263-272.
- Micale V, Perdichizzi F, 1990. Gonadal responsiveness to photoperiod extension in captivity-born *Sparus aurata* (L.) during the male phase. *Boll. Zool*, 57: 21-26.
- Montero D, Robaina L, Tort L, Afonso JM, Fernández-Palacios H, Izquierdo MS, 2001. Selective breeding for stress tolerance in gilthead sea bream *Sparus aurata*. World Aquaculture Society Symposium, Lake Buena Vista, Florida, January 21-25. p: 449.
- Navarro A, Oliva V, Zamorano MJ, Ginés R, Afonso JM, 2004. Evaluación del sistema de marcaje PIT (*Passive Integrated Transponder*) en alevines de dorada (*Sparus auratus* L.). *ITEA*. 100A, 3: 141-145.
- O'Flynn FM, Bailey JK, Friars GW, 1999. Responses to two generations of index selection in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture*. 173: 143-147.
- Oliva V, Zamorano MJ, Navarro A, Ginés R, Astorga N, Afonso JM. 2004. Utilización de marcadores microsatélites intraespecíficos e interespecíficos en poblaciones naturales de dorada. *ITEA*. 100A, 3: 276-280.
- Quinton CD, McMillana I, Glebe BD, 2005. Development of an Atlantic salmon (*Salmo salar*) genetic improvement program: Genetic parameters of harvest body weight and carcass quality traits estimated with animal models. *Aquaculture*. 247: 211-217.
- Rye M, Gjerde B, 1996. Phenotypic and genetic parameters of composition traits and flesh colour in Atlantic salmon. *Aquaculture*. 27: 121-133.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T, 1989. In molecular cloning: a laboratory Manual. 2^o Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor. New York.
- Stockley BM, Rogers AD, Iyengar A, Menezes G, Santos R, Long A, 2000. Ten microsatellite loci isolated and developed for the blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* (Brunnich 1768). *Mol Ecol.*, 9, 7: 999-1000.
- Zohar Y, Abraham M, Gordin H, 1978. The gonadal cycle of the captivity-reared hermaphroditic teleost *Sparus aurata* (L.) during the first two years of life. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 18, 4: 877-882.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Parámetros genéticos de los caracteres lecheros en la raza ovina manchega

M. Ramón^{*,***}, M.T. Fernández-Perea^{**}, M.D. Pérez-Guzmán^{*},
P.J. Sánchez^{**}, M. Serrano^{**}

* CERSYRA. Av. Del Vino 10, 13,300, Valdepeñas (Ciudad Real)

** INIA. Ctra. de la Coruña, Km. 7,5 28040, Madrid

*** Tfn. 926322156. e-mail: mramon@jccm.es

Resumen

Se han analizado un total de 296.627 lactaciones, pertenecientes a 102 rebaños de raza ovina Manchega, con registros de cantidad de leche, grasa y proteína, así como de porcentajes de grasa y proteína, todos ellos estandarizados a 120 días de lactación, con el fin de estimar parámetros genéticos para los principales componentes de la leche. Dado el elevado número de datos se han realizado muestreos aleatorios de la población inicial. El modelo de análisis utilizado fue un modelo animal multivariable con medidas repetidas que incluyó como efectos fijos el grupo de comparación rebaño-año-estación (RAE), el número de lactación-edad al parto (LE), el número de corderos nacidos (NC) y el intervalo parto-primer control (IP1C) y como efectos aleatorios, el efecto genético aditivo y el efecto ambiental permanente. Las heredabilidades estimadas fueron 0.16, 0.13, 0.14, 0.10 y 0.28 y los resultados de repetibilidad 0.37, 0.31, 0.35, 0.15 y 0.41 para los caracteres *Leche120*, *KgG120*, *KgP120*, *%G120* y *%P120* respectivamente, resultando todas ellas inferiores a las obtenidas en otras razas ovinas lecheras y a las descritas en análisis previos en esta misma raza. Los resultados para las diferentes muestras generadas fueron similares entre sí así como a las estimas obtenidas para cada uno de los caracteres considerados por separado (modelos univariantes) utilizando todas las lactaciones de la población inicial, no existiendo pérdida de precisión en los resultados al utilizar muestreos bajo un modelo multivariante. Las correlaciones genéticas resultaron elevadas y positivas entre *Leche120*, *KgG120* y *KgP120* y moderadas y negativas entre *leche120*, *%G120* y *%P120*. Dada la importancia económica de estos dos últimos caracteres, en un futuro próximo será de interés su inclusión dentro del objetivo de selección.

Palabras clave: ovino lechero, parámetros genéticos, heredabilidad, composición de la leche

Summary

Genetic parameters of milk traits in manchega breed sheep

A total of 296,627 lactation records which include milk, fat, protein yields (*leche120*, *KgG120*, *KgP120*) and fat and protein content (*%G120*, *%P120*) belonging to 102 herds of Manchega sheep breed were used to estimate genetic parameters for milk traits. Because the higher number of data available, random samplings from the initial population were carried out. A multivariate animal model with repeated measures was used to estimate variance components. Model included comparison group herd-year-season of lambing, lambing number-age at lambing, number of lambs born and the period of time between lambing and the first test-day, as fixed effects and the additive genetic and the permanent environmental as random effects. Estimated heritabilities were 0.16, 0.13, 0.14, 0.09 and 0.28 and repeatabilities were 0.37, 0.31, 0.35, 0.15 y 0.41 for *leche120*, *KgG120*, *KgP120*, *%G120* y *%P120* respectively, which were lower than those found in other dairy sheep breeds and in previous studies in Manchega breed. Results from samples were quite similar among them and with the results obtained

from univariate animal models for each single trait using all data available and no lost in precision using random samplings with a multivariate model were reported. Genetic correlations were high and positive between yields and moderately positive between %G120 and %P120, and negative or null between yields and composition. Because the economic importance of %G120 and %P120, it would be interesting to include both traits in the breeding objective.

Key words: dairy sheep, genetic parameters, heritability, milk composition

Introducción

El Esquema de Selección de la Raza Ovina Manchega (ESROM) se desarrolla en el Centro Regional de Selección y Reproducción Animal (CERSYRA) de Valdepeñas (Ciudad Real) desde 1986. La finalidad del programa desde su inicio ha sido potenciar la producción lechera de la raza. A lo largo de estos 20 años de selección se ha conseguido un progreso genético para producción lechera de 0,85 litros/año (Jurado et al., 2006), lo que representa un 0,84% de la media fenotípica. La leche se destina prácticamente en su totalidad a la elaboración de queso Manchego, amparado por una Denominación de Origen, muy apreciado en el mercado y que revaloriza el precio final del producto.

En la actualidad el programa de mejora plantea considerar otros caracteres como el contenido graso y proteico de la leche, implicados directamente en el rendimiento tecnológico de la leche en la elaboración del queso e importantes desde un punto de vista económico ya que la leche se paga por Hectogrado de Extracto Seco Útil (Hgdo. ESU) que depende directamente del contenido en grasa y proteína de la leche (ESU = % grasa + % proteína).

El objetivo de este trabajo fue estimar los parámetros genéticos para producción de leche estandarizada a 120 días de lactación (*Leche120*), así como para los principales componentes de la leche (Kg. de grasa (*KgG120*), Kg. de proteína (*KgP120*), porcentaje de grasa (%G120) y porcentaje de

proteína (%P120)) igualmente estandarizados a 120 días de producción.

Material y métodos

Datos

El Control Lechero Oficial (CLO) se realiza de forma sistemática en la raza ovina Manchega desde 1989 en el Centro Regional de Selección y Reproducción Animal (CERSYRA) de Valdepeñas. La metodología empleada consiste en la realización de cuatro controles por lactación, de mañana y de tarde de manera alternada (método AT, ICAR 1995). Los datos provienen de rebaños pertenecientes al núcleo de selección de la raza ovina Manchega, adscritos a un programa de mejora para el incremento de la cantidad de leche por lactación, en el que los rebaños están conectados a través de un esquema de machos de referencia. La conexión se establece por la presencia en los rebaños de un mínimo de 10 hijas de tres machos de IA. Desde su inicio y hasta el año 2005, se dispone de un total de 445.735 lactaciones distribuidas en 210 rebaños, con registros de cantidad y de calidad de leche. Debido al gran número de datos existentes, en este estudio se han considerado exclusivamente registros pertenecientes a los 102 rebaños que en la actualidad pertenecen al núcleo de selección y que realizan control de rendimientos. Sobre éstos se realizaron cinco muestreos aleatorios, estando consti-

tuida cada muestra por un total de 20 rebaños y un tamaño medio de 69.230 lactaciones por muestra. Asimismo, se exigió que las lactaciones tuviesen datos de producción (Kg. de leche estandarizados a 120 días) y de calidad (Kg. de grasa, porcentaje de grasa, Kg. de proteína y porcentaje de proteína, todos ellos estandarizados a 120 días

de lactación) en al menos dos de los cuatro controles de que constan, y que los rebaños que constituyen cada una de las muestras estuviesen conectados.

La tabla 1 muestra un resumen de los datos utilizados en este estudio, y en la tabla 2 se presenta la media y desviación estándar para los caracteres de interés.

Tabla 1. Resumen de los registros productivos de ovino Manchego utilizados en el estudio
Table 1. Data characteristics of Manchega sheep breed

Número de rebaños	102
Número de lactaciones	296.627
Animales en genealogía	91.728
Padres	623
Número medio hijas por padre	29
Madres	11.948
Animales con padre y madre conocidos	10.123
Animales con padre y madre desconocidos	52.674

Tabla 2. Media y desviación estándar de los caracteres lecheros
Table 2. Means and standard deviations of milk traits

	media	s.d.
Leche (Kg.)	148,57	64,98
Grasa (Kg.)	9,89	4,39
Proteína (Kg.)	8,42	3,55
% Grasa (g/L)	56,82	12,17
% Proteína (g/L)	47,77	4,64

Estimación de los parámetros genéticos

La estimación de los distintos parámetros genéticos se realizó mediante la metodología REML utilizando el programa REMLF90 de Misztal (Misztal *et al.*, 2002). Se utilizó un modelo animal multivariante con medidas repetidas, cuya ecuación matemática fue la siguiente (Legarra y Ugarte, 2001; Serrano *et al.*, 2003):

$$y_{ijklmn} = \mu + RAE_i + LE_j + NC_k + IP1C_l + a_m + P_n + \varepsilon_{ijklmn}$$

donde,

y_{ijklmn} : Kg. de leche, Kg. de grasa, Kg. de proteína, % de grasa y % de proteína estandarizados a 120 días de producción.

μ : media poblacional

RAE_i : rebaño - año de parto - estación de parto (de 1.243 a 1.726 niveles para las cinco muestras y 5211 niveles para la población total)

LE_j : número de parto - edad de parto (114 niveles)

NC_k : número de corderos nacidos en el parto (4 niveles)

IP1C₁ : intervalo parto - primer control (3 niveles)

(SAS®, 1998) resultando todos ellos significativos ($p < 0,001$).

a_m : efecto genético aditivo.

p_n : efecto ambiental permanente.

ε_{ijklmn} : residuo.

Como paso previo al cálculo de parámetros genéticos, se realizó un análisis de varianza para los factores incluidos como efectos fijos en el modelo mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS

Resultados y discusión

La tabla 3 muestra los componentes de varianza estimados para cada uno de los caracteres a estudio a partir del modelo multivariante en las cinco muestras, y a partir del modelo univariante en la población total.

Tabla 3. Componentes de varianza para los caracteres en estudio: varianza genética aditiva (σ^2_a), varianza ambiental permanente (σ^2_p), varianza residual (σ^2_ϵ) y repetibilidad (r) para los caracteres kilos de leche (Leche120), kilos de grasa (KgG120) y proteína (KgP120) y porcentaje de grasa (%G120) y proteína (%P120) estandarizados a 120 de lactación en la raza ovina Manchega según los modelos univariante y multivariante utilizados

Table 3. Genetic, permanent environmental and residual variances, heritability and repetibility for milk, fat and protein yields and fat and protein concentration standardized to 120 days of lactation in Manchega breed

		m01*	m02	m03	m04	m05	univar**
leche120	σ^2_a	292,9	404,9	382,7	350,4	385,3	339,6
	σ^2_p	480,3	474,8	481,0	483,8	535,7	545,9
	σ^2_ϵ	1344	1529	1513	1368	1498	1463
	r	0,37	0,37	0,36	0,38	0,38	0,38
KgG120	σ^2_a	1,212	1,782	1,688	1,372	1,606	1,328
	σ^2_p	2,114	2,250	2,003	1,884	2,327	2,358
	σ^2_ϵ	7,299	9,738	8,282	7,207	8,475	8,382
	r	0,31	0,29	0,31	0,31	0,32	0,31
KgP120	σ^2_a	0,783	1,055	1,047	0,886	0,981	0,889
	σ^2_p	1,359	1,399	1,388	1,327	1,556	1,539
	σ^2_ϵ	4,106	4,766	4,538	4,015	4,594	4,424
	r	0,34	0,34	0,35	0,36	0,36	0,35
%G120	σ^2_a	0,103	0,116	0,113	0,125	0,103	0,119
	σ^2_p	0,086	0,062	0,066	0,070	0,062	0,063
	σ^2_ϵ	0,935	1,095	1,018	0,952	0,973	1,033
	r	0,17	0,14	0,15	0,17	0,15	0,15
%P120	σ^2_a	0,046	0,056	0,051	0,056	0,053	0,054
	σ^2_p	0,032	0,020	0,025	0,024	0,026	0,023
	σ^2_ϵ	0,109	0,111	0,109	0,106	0,117	0,109
	r	0,42	0,42	0,41	0,43	0,40	0,41

*m01, m02, m03, m04, m05: resultados de la estima de componentes de varianza para cada uno de los caracteres en cada una de las cinco muestras utilizadas en el análisis multivariante / m01, m02, m03, m04, m05: variante components for milk traits to each sample used with a multivariate model.

**univar: resultados de la estima de componentes de varianza para cada uno de los caracteres por separado bajo un modelo univariante / univar: variante components for milk traits with a multivariate model.

La tabla 4 muestra la heredabilidad (en la diagonal) y las correlaciones genéticas (sobre la diagonal) y fenotípicas (bajo la diagonal) para los caracteres en estudio. Los resultados corresponden a la media de las 5 muestras bajo el modelo multivariante.

Los componentes de varianza estimados en cada una de las cinco muestras aleatorias bajo un modelo multivariante y los obtenidos de la población total bajo un modelo univariante han resultado similares.

Las varianzas fenotípicas resultantes fueron mayores bajo el modelo univariante como se

esperaba al considerar éste toda la variabilidad de la población y el modelo multivariante muestreos de la misma. El componente residual de la varianza fenotípica es mayor bajo el modelo multivariante debido a la pérdida de información asociado al muestreo. No obstante, las diferencias son pequeñas y no afectan a la precisión en la estima de parámetros. Asimismo, los resultados para cada una de las cinco muestras son similares, y únicamente se aprecian diferencias moderadas entre las muestras *m01* y *m02* debidas al propio muestreo.

Tabla 4. Heredabilidades (en la diagonal), correlaciones genéticas (sobre la diagonal) y fenotípicas (bajo la diagonal) para los caracteres kilos de leche (*Leche120*), kilos de grasa (*KgG120*) y proteína (*KgP120*) y porcentaje de grasa (*%G120*) y proteína (*%P120*) estandarizados a 120 de lactación en la raza ovina Manchega

Table 4. Heritabilities (diagonal), genetic correlations (above the diagonal) and phenotypic correlations (below the diagonal) for milk, fat and protein yields and fat and protein concentration standardized to 120 days of lactation in Manchega breed

	<i>Leche120</i>	<i>KgG120</i>	<i>KgP120</i>	<i>%G120</i>	<i>%P120</i>
<i>Leche120</i>	0,16	0,94	0,96	-0,29	-0,45
<i>KgG120</i>	0,87	0,13	0,95	0,01	-0,28
<i>KgP120</i>	0,97	0,85	0,14	-0,14	-0,22
<i>%G120</i>	-0,14	0,30	-0,08	0,10	0,64
<i>%P120</i>	-0,29	-0,16	-0,07	0,29	0,28

Media de los resultados obtenidos en las cinco muestras. El error estándar se situó en el rango 0,05 - 0,2 / Mean of the results for the five random samplings. Standard errors ranged from 0,05 to 0,2.

Las repetibilidades (tabla 3) para los distintos caracteres han resultado similares a las obtenidas en otras razas. Así, los valores obtenidos en fueron de 0.36-0.38, 0.14-0.17 y 0.40-0.43 en Manchega y de 0.40, 0.21, y 0.38 en Churra (Othmane et al., 2002) para los caracteres *leche120*, *%G120* y *%P120* respectivamente, de 0.40-0.47 para el carácter *leche120* en raza Latxa (Serrano et al., 2001) y de 0.37-0.52 y 0,21-0.35 para los caracteres *leche120* y *%P120* respectivamente y en raza Manchega (Serrano et al., 2001). La

repetibilidad para el carácter porcentaje de grasa resultó ser menor que la señalada en los trabajos anteriores. El porcentaje grasa de la leche tiene una marcada variabilidad individual mayor a la de otros componentes de la leche (Arias et al., 2005). La existencia de pocas medidas repetidas por animal (únicamente el 37% de las ovejas presentan más de dos lactaciones) y la falta de registros genealógicos podrían ser otras causas de la baja magnitud de las estimas para la composición grasa y proteica de la leche.

En general, las heredabilidades (tabla 4) resultaron inferiores a las obtenidas en la razas ovinas Latxa (Legarra y Ugarte, 2001), Churra (Othmane, 2000), Sarda (Sanna et al., 2000) y Lacaune (Barillet, 1997), así como a las obtenidas en estudios previos en raza Manchega (Serrano et al., 2001). Los caracteres cantidad de leche, grasa y proteína presentaron heredabilidades moderadas, mientras que las de los porcentajes de grasa y proteína fueron baja y alta respectivamente. Como se señaló arriba, la variabilidad de manejo, la falta de medidas repetidas por animal y de registros genealógicos, así como la mayor variabilidad de la grasa en leche podrían explicar estos resultados. Las correlaciones genéticas entre cantidad de leche y kilogramos de grasa y proteínas resultaron altas y positivas, siendo moderadamente negativas las correlaciones entre la producción de leche y los porcentajes de grasa y proteína.

Las estimas de heredabilidad obtenidas en cada una de las cinco muestras resultaron muy similares, con rangos de 0,14 – 0,17 para *Leche120*, de 0,12 – 0,14 para *KgG120*, de 0,13 – 0,15 para *KgP120*, de 0,09 – 0,10 para *%G120* y de 0,26 – 0,30 para *%P120*. Asimismo, se compararon éstos resultados con los obtenidos a partir de modelos unicarácter para cada uno de los cinco caracteres considerando el total de registros de que se disponía inicialmente (296.627 lactaciones). Las heredabilidades obtenidas fueron de 0.15, 0.11, 0.13, 0.09 y 0.27 para *Leche120*, *KgG120*, *KgP120*, *%G120* y *%P120* respectivamente, muy similares a la media de los resultados de las cinco muestras (tabla 3) aunque siempre algo superiores estos últimos.

La elevada heredabilidad (0,28) del carácter *%P120*, su importancia desde un punto de vista económico y el hecho de que la selección hacia cantidad de leche exclusivamente conducirá a una reducción del porcentaje

de proteína como consecuencia de la correlación genética negativa entre ambos caracteres, hacen que este carácter sea de gran interés para el programa de mejora genética de la raza Manchega. También resulta de interés económico el carácter *%G120*, aunque su heredabilidad (0,09) sea menor.

Conclusiones

En este trabajo se presenta la estima de los parámetros genéticos para los principales componentes de la leche en raza ovina Manchega. Dado el elevado número de registros de que se disponía se realizaron muestreos aleatorios de la población inicial, obteniéndose resultados muy similares en cada una de las cinco muestras analizadas para los cinco caracteres de interés bajo una aproximación multivariada, y muy similares a los resultados del total de la población cuando se realizaron análisis para cada carácter por separado. El muestreo aleatorio de un número apropiado de rebaños (N=20) permitió realizar los cálculos para un modelo multivariado de 5 caracteres, con una reducción en el tiempo de computación y con resultados similares.

Las estimas obtenidas han resultado ser inferiores a las descritas en otras razas ovinas lecheras.

En un futuro próximo los caracteres de calidad, dada su importancia en el rendimiento industrial de la producción de leche en la raza ovina Manchega, podrían ser incluidos dentro de los objetivos del programa de mejora genética. La orientación actual del esquema hacia cantidad de leche exclusivamente podría conducir a una disminución de los porcentajes de grasa y proteína, y en definitiva de la calidad de la leche. Teniendo en cuenta que el precio de la leche depende de estos dos últimos componentes, parece

claro el interés económico de su inclusión como criterios de selección.

Agradecimientos

M. Ramón agradece al INIA la beca predoctoral así como a todas las personas que han colaborado en la elaboración de este artículo.

Bibliografía

- Arias R, Ramón M, Gallego R, Pérez-Guzmán MD, 2005. Variaciones diarias de leche, grasa, proteína y recuentos de células somáticas en ovejas de raza Manchega. ITEA Vol. Extra 26: 691-693.
- Barillet F, 1997. Genetics of milk production. In: The genetics of the sheep. Ed.: L. Piper and A. Ruvinsky. CAB International.
- Fernando RL, Gianola D, Grossman M, 1983. Identifying connected subsets in a two-way classification without interaction. J. Dairy Sci. 66: 1399-1402.
- Jurado JJ, Serrano M, Pérez-Guzmán MD, 2006. Análisis del progreso genético obtenido en el esquema de selección de la raza ovina Manchega. ITEA 102(1).
- Legarra A, 2002. Optimización del esquema de mejora de la raza Latxa: análisis del modelo de valoración e introducción de nuevos caracteres en el objetivo de selección. Tesis doctoral. Universidad de Navarra. 169 pp.
- Legarra A, Ugarte E, 2001. Genetic parameters of milk traits in Latxa dairy sheep. Anim. Sci. Vol. 73, 3: 407-412.
- Legarra A, Ugarte E, Arrese F, 2003. Analysis of the genetic progress in the Latxa breed breeding program. ITEA 99: 192-202.
- Misztal I, Tsuruta S, Strabel T, Auvray B, Druet T, Lee DH, 2002. BLUPF90 and related programs (BGF90). 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. CD-ROM Communication, 28-07.
- Othmane MH, 2000. Parámetros genéticos de la composición de la leche de oveja y del rendimiento quesero en laboratorio. Tesis Doctoral. Universidad de León.
- Othmane MH, Carriedo JA, San Primitivo F, De la Fuente LF, 2002. Genetic parameters for lactation traits of milking ewes: protein content and composition, fat, somatic cells and individual laboratory cheese yield. Genet. Sel. Evol. 34: 581-596.
- Sanna SR, Carta A, Casu S, 2000. Lo statu attuale dello schema di selezione della pecora di razza Sarda. L'Allevatore di ovini e caprini, 4: 1-2.
- SAS® User's Guide: Statistics, Version 8, SAS® Inst. Inc., Cary, USA, 1999.
- Serrano M, Pérez-Guzmán MD, Montoro V, Jurado JJ, 1996b. Genetic parameters estimation and selection progress for milk yield in Manchega sheep. Small. Rumin. Res. 23: 51-57.
- Serrano M, Ugarte E, Jurado JJ, Pérez-Guzmán MD, Legarra A, 2001. Test day models and genetic parameters in Latxa and Manchega dairy ewes. Liv. Prod. Sci. 67: 253-264.
- Serrano M, Pérez-Guzmán MD, Montoro V, Jurado JJ, 2003. Genetic analysis of somatic cell count and milk traits in Manchega ewes: mean lactation and test-day approaches. Liv. Prod. Sci. 84: 1-10.
- Ugarte E, Serrano M, De la Fuente LF, Pérez-Guzmán MD, Alfonso L, Gutiérrez JP, 2002. Situación actual de los programas de mejora genética en ovino de leche. ITEA 98: 102-117.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Evaluación genética del tamaño de camada en sucesivos partos en una línea materna de cerdos *Large White*

A. Fernández, M.C. Rodríguez, L. Silió

Departamento de Mejora Genética Animal, SGIT-INIA, Carretera A Coruña km 7, 28040 Madrid

Resumen

En la evaluación genética del tamaño de camada en cerdos se consideran usualmente los registros de distintos partos como medidas repetidas del mismo carácter, que se analizan mediante un modelo animal de repetibilidad, que asume homogeneidad de varianzas y alta correlación genética entre partos. Estas hipótesis se han contrastado en este trabajo mediante el análisis del número de lechones nacidos vivos registrado en 14.774 camadas nacidas a lo largo de los siete primeros partos de 3.909 cerdas de una línea *Large White* empleando un modelo multicarácter (MTM) y un modelo de regresión aleatoria (RRM). Las estimas de la heredabilidad (h^2) obtenidas con el modelo MTM muestran un valor creciente desde el parto primero ($0,07 \pm 0,01$) al sexto ($0,28 \pm 0,04$), y un valor inferior en el séptimo y último parto ($0,13 \pm 0,02$). Con el modelo RRM se obtuvieron estimas más homogéneas entre los distintos partos y similares a los del coeficiente de ambiente permanente ($h^2 \approx p^2 \approx 0,10$). Con ambos modelos se obtuvieron estimas de la correlación genética entre partos adyacentes en su mayoría elevadas ($\rho_G \approx 0,80$), y moderadas o bajas ($\rho_G \approx 0,30 - 0,40$) entre partos distantes. Estos resultados sustentan el empleo de modelos MTM o RRM para la evaluación genética de la prolificidad, que permitirían además abordar la mejora de la persistencia del tamaño de camada, que decae sensiblemente en los partos más tardíos.

Palabras clave: Tamaño de camada; cerdos; modelo multicarácter; modelo regresión aleatoria

Summary

Genetic evaluation of litter size for multiple parities in a dam line of *Large White* pigs

Genetic evaluation of litter size in pigs is usually performed considering litter size from different parities as repeated measures of the same trait, and fitting an animal model with repeatability, which assumes homogeneous variances and high genetic correlation between parities. To test these hypotheses, a total of 14,774 records from the first seven parities for number of piglets born alive from 3,909 *Large White* sows were analyzed using a multitrait animal model (MTM) and a random regression model (RRM). The parameters estimated using the MTM evidenced an increasing tendency of heritability (h^2) from first ($0,07 \pm 0,01$) to sixth ($0,28 \pm 0,04$) parities, being its value lower ($0,13 \pm 0,02$) in the seventh parity. Values of heritabilities and permanent environmental ratios estimated using the RRM were similar and fluctuate around 0.10 for the different parities. Using both models, the genetic correlations estimated between successive parities were high ($\rho_G \approx 0,80$) and decreased ($\rho_G \approx 0,30 - 0,40$) as the interval between parities increased. The application of MTM and RRM approaches to genetic evaluation of pig litter size would be useful to improve its low persistency in the later parities.

Key words: Litter size; pig; multitrait model; random regression model

Introducción

La selección para prolificidad realizada durante las dos últimas décadas ha permitido obtener progresos genéticos moderados en el tamaño de camada de algunas líneas porcinas de utilización maternal (Petit et al., 1988; Estany y Sorensen, 1995; Noguera et al., 2002). La introgresión de genes de las razas hiperprolíficas chinas del grupo *Taihu* ha reforzado estos cambios genéticos para el tamaño de camada en líneas compuestas de origen Chino-Europeo (Haley y Lee, 1993). Como el rendimiento reproductivo se registra a lo largo de sucesivos partos de cada cerda, entre los que se asume homogeneidad de varianza y alta correlación genética, la evaluación genética del tamaño o peso de camada se realiza usualmente empleando el modelo animal con repetibilidad (RM) (Rodríguez et al., 1994; Roehe, 1999). En caso de que las estimas de las correlaciones genéticas entre el tamaño de camada en distintos partos fueran substancialmente menores que uno, se ha justificado la utilización de modelos multicarácter (MTM), que contemplan que a lo largo de la vida reproductiva estén involucrados en el control de la prolificidad genes o combinaciones de genes parcialmente distintos (Roehe y Kennedy, 1995; Noguera et al., 2002).

Una tercera alternativa posible es la utilización de modelos de regresión aleatoria (RRM), que en los últimos años se vienen utilizando en el análisis de registros obtenidos repetidamente de cada individuo a lo largo de su actividad productiva. Estos modelos requieren un menor número de parámetros, y permiten también analizar los cambios temporales de la variabilidad genética, así como alterar mediante selección el patrón de evolución temporal del carácter de interés. En cerdos, estos modelos se han utilizado para la evaluación gené-

tica del consumo de pienso o el crecimiento (Andersen y Pedersen, 1996; Schnyder et al., 2001). Aunque se ha propuesto su empleo en la evaluación del tamaño de camada (Schaeffer, 2004), son pocos los trabajos con este enfoque publicados hasta la fecha (Lukovic et al., 2004; Fernández et al., 2005). El objetivo de este trabajo es la investigación de la base genética del tamaño de camada en una línea materna *Large White* mediante el empleo de los tres modelos alternativos (RM, MTM y RRM), y el análisis de sus efectos respectivos sobre la ordenación por mérito genético de los animales evaluados, con vistas a la mejora genética de la persistencia de este carácter en los últimos partos de las cerdas madres.

Material y métodos

Datos

Los datos analizados corresponden a 14.774 camadas nacidas de 3.909 cerdas *Large White* (LW) del núcleo de selección y dos granjas de multiplicación de la empresa de producción porcina COPESE. El carácter analizado es el número de lechones nacidos vivos por camada (NV). La distribución del número de camadas en las siete categorías consideradas de ordinal de parto (1° a 7°) fue de 3.738, 3.035, 2.511, 1.973, 1.529, 1.145 y 823 camadas. El archivo de genealogía consta de 5.813 individuos. La población base incluye a los ascendientes desconocidos de animales *Large White* standard que constituye el origen de esta línea. La posterior importación de animales *Large White* hiperprolíficos seleccionados en Francia hace aconsejable distinguir dos grupos genéticos adicionales, que corresponden a los parentales desconocidos de individuos de este origen genético nacidos antes o después de 1996.

Modelos estadísticos

Los modelos de evaluación genética utilizados para el análisis del número de lechones nacidos vivos por camada (NV) se describen seguidamente:

a) Modelo animal con repetibilidad (RM). El modelo de repetibilidad se representa en forma matricial como

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}_1\mathbf{u} + \mathbf{Z}_2\mathbf{p} + \mathbf{e}$$

donde \mathbf{y} es el vector de n observaciones ($n = 14.774$); \mathbf{X} , \mathbf{Z}_1 y \mathbf{Z}_2 matrices de incidencia de orden $n \times 65$, $n \times 5.813$ y $n \times 3.909$ relacionando con \mathbf{y} los parámetros en $\boldsymbol{\beta}$, \mathbf{u} y \mathbf{p} , respectivamente; $\boldsymbol{\beta}$ es un vector de 65 efectos sistemáticos, incluyendo el intercepto (1) y los efectos de la granja (3), tipo genético del padre de la camada (4), ordinal de parto (7) y año-estación (50); \mathbf{u} es un vector de 5.813 efectos genéticos aditivos; \mathbf{p} es un vector de 3.909 efectos de ambiente permanente asociados con las cerdas madres y \mathbf{e} es el vector de n residuos. Se asumen las siguientes distribuciones de los efectos aleatorios:

$$\mathbf{u} \mid \sigma_u^2, \mathbf{A}, \mathbf{Q}, \mathbf{g} \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{Qg} \sigma_u^2), \mathbf{p} \mid \sigma_p^2 \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I}_p \sigma_p^2) \text{ y } \mathbf{e} \mid \sigma_e^2 \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I}_e \sigma_e^2)$$

siendo \mathbf{A} la matriz de relaciones genéticas aditivas; \mathbf{Q} una matriz de orden 5.813×3 y cuyos elementos q_{im} son la proporción de genes del animal i procedente del grupo m ; \mathbf{g} es el vector de efectos de los 3 grupos genéticos (Quaas, 1988); \mathbf{I}_p e \mathbf{I}_e son matrices de identidad de orden apropiado, y σ_u^2 , σ_p^2 y σ_e^2 son los componentes de varianza genética aditiva, de ambiente permanente y residual, respectivamente.

b) *Modelo multicarácter* (MTM). En el modelo multicarácter, el registro de NV en cada uno de los n_t primeros partos se considera un carácter diferente. Este modelo se representa en forma matricial:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}\mathbf{u} + \mathbf{e}$$

donde \mathbf{y} es ahora una matriz de observaciones de orden $3.909 \times n_t$ ($n_t = 7$ partos); \mathbf{X} , y \mathbf{Z} matrices de incidencia, relacionando con \mathbf{y} los parámetros en $\boldsymbol{\beta}$ y \mathbf{u} ; $\boldsymbol{\beta}$ es una matriz de orden $58 \times n_t$ incluyendo los mismos efectos sistemáticos excepto el ordinal de parto; \mathbf{u} es una matriz $5.813 \times n_t$ de efectos genéticos aditivos y \mathbf{e} es una matriz $3.909 \times n_t$ de residuos. Se asumen las siguientes distribuciones de los efectos aleatorios

$$\mathbf{u} \mid \Sigma_u, \mathbf{A}, \mathbf{Q}, \mathbf{g} \sim N(\mathbf{Qg}, \mathbf{A} \otimes \Sigma_u) \text{ y } \mathbf{e} \mid \Sigma_e \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I} \otimes \Sigma_e)$$

siendo \mathbf{A} y \mathbf{Q} las matrices ya descritas y \mathbf{g} es ahora una matriz $3 \times n_t$ de efectos de los 3 grupos genéticos. Σ_u y Σ_e son las matrices $n_t \times n_t$ de (co)varianzas de los efectos genéticos aditivos y residuales.

c) *Modelo de regresión aleatoria* (RRM). En la presente aplicación de este modelo se asume como unidad temporal observada el ordinal de parto t , y se incluye una función que describe la trayectoria fenotípica media del carácter para los sucesivos valores de t . Además, los efectos genéticos aditivos y permanentes se modelizan como regresiones aleatorias sobre el ordinal de parto, intentando reflejar las desviaciones respecto a la trayectoria fenotípica de cada individuo. De acuerdo con Kirkpatrick et al. (1990), se han utilizado como covariables de estas regresiones los términos de polinomios de Legendre (LG), funciones de la variable temporal tipificada (t^*), con rango -1 a $+1$, y obtenida mediante la expresión

$$t^* = [2(t - t_{min}) / (t_{max} - t_{min})] - 1$$

Para las regresiones aleatorias de los efectos aditivos y permanentes se han empleado polinomios de Legendre de segundo grado (LG2), y un polinomio de Legendre de tercer grado (LG3) para la función descriptora de la trayectoria media del carácter a lo largo de los diferentes partos. La elección del orden de los polinomios se basó en la pro-

porción de la variación explicada por sus términos. En notación matricial este modelo se representa como

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}_1\mathbf{u} + \mathbf{Z}_2\mathbf{p} + \mathbf{e}$$

siendo \mathbf{y} el vector de las observaciones de NV; \mathbf{X} , \mathbf{Z}_1 y \mathbf{Z}_2 son matrices de incidencia relacionando con \mathbf{y} los nuevos parámetros en $\boldsymbol{\beta}$, \mathbf{u} y \mathbf{p} , respectivamente, por lo que incluyen como covariables los correspondientes términos de los polinomios de Legendre; $\boldsymbol{\beta}$ contiene los efectos sistemáticos, y en el que un polinomio LG(3) reemplaza al intercepto y al efecto del ordinal de parto; los elementos de \mathbf{u} y \mathbf{p} son respectivamente los coeficientes de regresión aleatoria genético aditivos para cada animal y los coeficientes de regresión de ambiente permanente para cada cerda con registros y \mathbf{e} es el vector de residuos, que en esta aplicación se asume no dependen de t . Las distribuciones asumidas para los efectos aleatorios son las siguientes

$$\mathbf{u} \mid \mathbf{K}_u, \mathbf{A}, \mathbf{Q}, \mathbf{g} \sim N(\mathbf{Qg}, \mathbf{A} \otimes \mathbf{K}_u), \mathbf{p} \mid \mathbf{K}_p \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I}_p \otimes \mathbf{K}_p) \text{ y } \mathbf{e} \mid \sigma_e^2 \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I}_e \otimes \sigma_e^2)$$

Los cálculos para los diferentes análisis se realizaron utilizando el paquete informático VCE-5 (Kovac y Groneveld, 2003). Para realizar algunos cálculos complementarios se utilizaron programas facilitados por la Dra. María Jesús Carabaño.

Resultados y discusión

La media del número de lechones nacidos vivos en las camadas analizadas fue 10,1 lechones (SD = 3,2), con un rango de variación entre 0 y 22 lechones. Los cambios en la media del tamaño de camada a lo largo de los 7 primeros partos se presentan en la figura 1, que revela la débil persistencia del carácter en la población *Large White* analizada. Los resultados obtenidos con el modelo RM permiten disponer de estimas precisas

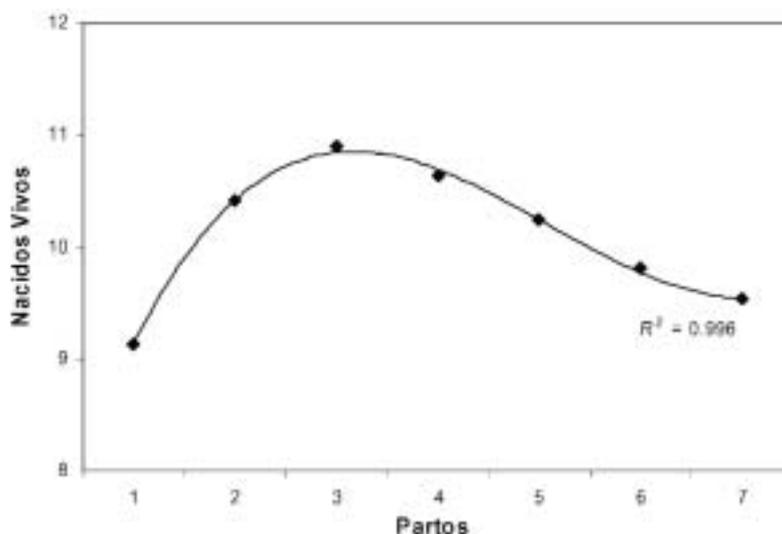


Figura 1. Relación entre el número medio de lechones nacidos vivos por camada y el ordinal de parto, y ajuste del polinomio de Legendre de grado 3.

Figure 1. Phenotypic mean by parity for number of piglets born alive: a Legendre polynomial of degree 3 accounts for the phenotypic trajectory of averaged trait over parities.

del efecto del ordinal de parto sobre NV (tabla 1). La máxima expresión del carácter se alcanza en el parto 3º, registrándose en los subsiguientes una importante reducción del tamaño de camada, que en el 7º es similar al que presentan las cerdas primíparas. En otras poblaciones es más tardío el máximo valor del carácter, que presenta además una mayor persistencia. Así en cerdos Ibéricos el tamaño de camada al nacimiento aumenta del 1º al 5º parto, no iniciándose hasta el 7º un declive significativo (Pérez-Enciso y Gianola 1992; Rodríguez et al. 1994; Fernández et al., 2006). En las razas utilizadas usualmente como líneas maternas en la producción intensiva (*Landrace, Yorkshire*) el máximo tamaño de camada se alcanza habitualmente en el 4º parto (Roehle y Kennedy, 1995; Noguera et al., 2002), aunque puedan registrarse diferencias entre distintas líneas comerciales (Moeller et al., 2004).

Parámetros genéticos

Los valores de heredabilidad de NV ($0,08 \pm 0,01$) y del coeficiente de ambiente perma-

nente ($0,07 \pm 0,01$) estimados mediante el modelo RM (tabla 1) corresponden a una repetibilidad $r^2 = 0,15$, y están dentro del rango de variación de las estimas de estos parámetros obtenidas en numerosos estudios revisados por Rothschild y Bidanel (1988). El valor de la varianza fenotípica ($\sigma_p^2 = 9,79$) supone un importante coeficiente de variación del carácter ($CV = 0,31$), que posibilita teóricamente el logro por selección de cambios genéticos apreciables en NV pese a su heredabilidad baja.

Este modelo presupone que las medidas repetidas del carácter tienen una base genética común, y las estimas de parámetros genéticos del tamaño de camada con él obtenidas pudieran estar sesgadas por la eliminación de las cerdas con peor rendimiento reproductivo en los primeros partos. El modelo MTM permite un tratamiento más correcto de ambos aspectos. Si la mayoría de los genes con influencia sobre NV fueran los mismos en los sucesivos partos, se esperarían valores homogéneos de la heredabilidad (h^2) y elevados de la correlación genética (ρ_G) entre todos ellos.

Tabla 1. Estimaciones de los efectos del ordinal de parto y granja, heredabilidad ($h^2 = \sigma_u^2 / \sigma_p^2$) y coeficiente de ambiente permanente ($p^2 = \sigma_p^2 / \sigma_p^2$) para el número de lechones nacidos vivos obtenidas mediante un modelo animal de repetibilidad (RM).

Table 1. Estimated effects of parity and farm, heritability ($h^2 = \sigma_u^2 / \sigma_p^2$) and permanent environmental coefficient ($p^2 = \sigma_p^2 / \sigma_p^2$) for the number of piglets born alive per litter obtained fitting a repeatability animal model (RM)

	Estima	Error típico		Estima	Error típico
<i>Parto</i>			<i>Granja</i>		
1	-1,72	0,08	1	0,00	0,00
2	-0,48	0,08	2	0,19	0,10
3	0,00	0,00	3	0,73	0,13
4	-0,36	0,09			
5	-0,78	0,10	<i>Cocientes de varianzas</i>		
6	-1,30	0,11	h^2	0,08	0,01
7	-1,67	0,13	p^2	0,07	0,01

Sin embargo, los resultados de la utilización del modelo MTM en este estudio (tabla 2) muestran un valor creciente de la heredabilidad de NV desde el parto primero ($0,07 \pm 0,01$) al sexto ($0,28 \pm 0,04$), y un valor inferior en el séptimo y último parto analizado ($0,13 \pm 0,02$). Tendencias crecientes de los valores de h^2 han sido descritas hasta el cuarto y el sexto partos por Roehe y Kennedy (1995) y Noguera et al. (2002), respectivamente. Un incremento ligero de los valores de h^2 hasta el sexto parto ha sido también descrito por Hanenberg et al. (2001). Ninguno de los autores citados analizaron partos posteriores al sexto. En cuanto a las correlaciones genéticas, presentan valores moderados o bajos entre partos distantes y sólo tres de las 21 estimas superan el valor ($\rho_G = 0,80$), empíricamente adoptado como discriminante de dos caracteres como genéticamente distintos. Este conjunto de resultados obtenidos con el modelo multicarácter, en concor-

dancia con trabajos previos en otras poblaciones (Noguera et al., 2002; Fernández et al., 2006), suponen un respaldo a la utilización de este tipo de modelos frente al modelo de repetibilidad.

Como se ha mencionado anteriormente, el modelo RRM empleado en este estudio incluye un polinomio de Legendre de orden 3 como descriptor de la trayectoria fenotípica media del carácter para los sucesivos valores del ordinal de parto. La proporción de la dispersión entre medias por ordinal de parto explicada por el polinomio LG(3) es de 0,996 (figura 1). En cuanto a las regresiones aleatorias, los autovalores de las matrices de (co)varianzas aleatorias y de ambiente permanente mostraron que, en el presente estudio, polinomios de Legendre cuadráticos LG(2) fueron suficientes para modelar la variabilidad de los efectos aleatorios incluidos en el modelo. La proporción de la varianza de los coeficientes de regresión

Tabla 2. Estimaciones de heredabilidades (en diagonal) y correlaciones genéticas (por encima de la diagonal) para número de lechones nacidos vivos en los siete primeros partos obtenidas con empleo de un modelo multicarácter (MTM). Los errores típicos se presentan entre paréntesis

Table 2. Estimated heritabilities (diagonal) and genetic correlations (above diagonal) for the number of piglets born alive per litter in the first seven parities, obtained fitting a multitrait animal model (MTM). (Standard errors between brackets)

Parto	1	2	3	4	5	6	7
1	0,07 (0,01)	0,85 (0,08)	0,20 (0,13)	0,45 (0,12)	0,39 (0,10)	0,24 (0,10)	0,58 (0,06)
2		0,09 (0,01)	0,56 (0,08)	0,75 (0,08)	0,52 (0,09)	0,19 (0,10)	0,45 (0,12)
3			0,10 (0,02)	0,83 (0,08)	0,56 (0,10)	0,55 (0,12)	0,31 (0,13)
4				0,15 (0,02)	0,67 (0,09)	0,57 (0,08)	0,44 (0,11)
5					0,15 (0,03)	0,66 (0,11)	0,88 (0,05)
6						0,28 (0,04)	0,72 (0,08)
7							0,13 (0,02)

aleatoria genético aditivos explicada por los términos constante, lineal y cuadrático de LG(2) fue respectivamente de 0,973, 0,017 y 0,009. Las proporciones equivalentes de la varianza de los coeficientes de regresión aleatoria de los efectos permanentes fueron 0,974, 0,025 y 0,001. El empleo de polinomios LG(3) quedó descartado, al ser nula la proporción de estas varianzas explicada por su término cúbico.

Algunas de las diferencias entre las estimas de parámetros obtenidas mediante los modelos MTM y RRM pueden apreciarse en la figura 2. La modelización como regresiones aleatorias de los efectos genéticos suaviza los cambios de sus estimas en relación con la variable temporal, algo más bruscos y erráticos en la estimación con el modelo

multicarácter. Un segundo aspecto interesante es la posibilidad de considerar en el modelo los efectos sobre NV del ambiente permanente de la reproductora, cuyo estado nutricional y sanitario puede afectar a la similitud de los registros, especialmente entre partos adyacentes. Estos aspectos se reflejan asimismo en los valores de las estimas de los cocientes de (co)varianzas obtenidas con el modelo RRM (tabla 3), que muestran: a) valores del coeficiente de efectos de ambiente permanente ($\rho^2 = \sigma_p^2/\sigma_p^2$) en los distintos partos similares a los de las heredabilidades, siendo todos ellos relativamente homogéneos ($h^2 \approx 0,10$); b) las correlaciones de efectos de ambiente permanente son altas entre partos adyacentes y entre partos tardíos ($\rho_p > 0,80$), y decrecen considerable-

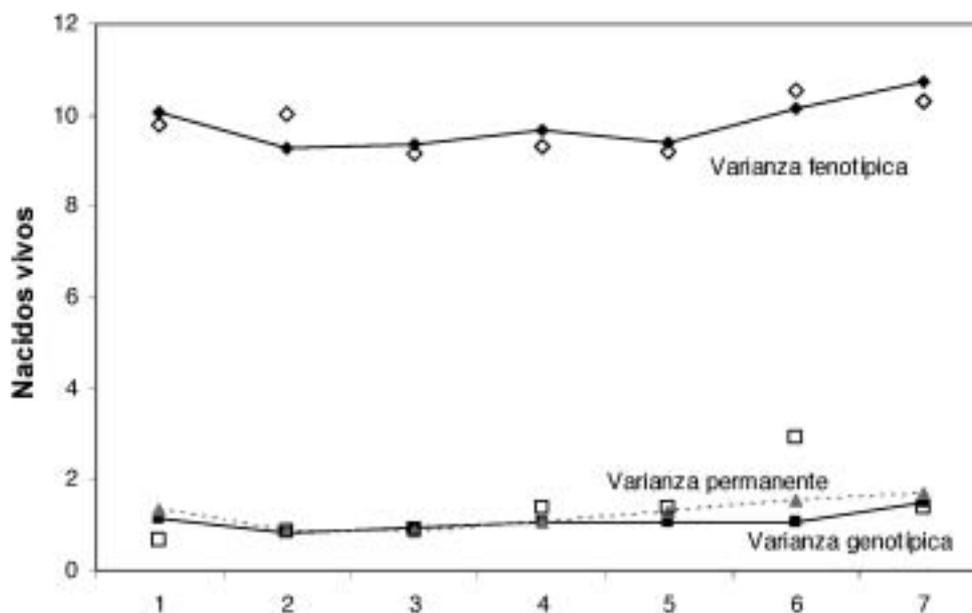


Figure 2. Cambios en la varianza fenotípica del número de lechones nacidos vivos y sus componentes (varianzas genética y de efecto de ambiente permanente) a lo largo de los siete primeros partos estimadas mediante modelos MTM (\diamond y \square) y RRM (\blacklozenge , \blacksquare y \blacktriangle).

Figure 2. Changes of the phenotypic variance of the number of piglets born alive per litter and its components (genetic variance and variance of permanent environmental effects) along the first seven parities estimated under the models MTM (\diamond , \square) and RRM (\blacklozenge , \blacksquare , \blacktriangle).

mente cuando se alarga el intervalo entre partos; c) la estructura de correlaciones genéticas es algo más homogénea que la obtenida con el modelo MTM: nueve de las 21 estimas superan entre partos adyacentes el valor de referencia ($\rho_G = 0,80$), y sólo se aprecian correlaciones genéticas bajas ($\rho_G \approx 0,30 - 0,40$) entre partos distantes. En conjunto, los resultados obtenidos con el modelo de regresión aleatoria aportan matizaciones a la posible utilización de modelos alternativos al clásico de repetibilidad.

Evaluación genética y selección para persistencia

El objetivo último de este estudio era examinar la magnitud de los efectos del empleo de estos modelos en la ordenación de los animales por su mérito genético, y como consecuencia en las correspondientes decisiones de selección. Para ello hemos analizado exclusivamente las estimas de valor mejorante obtenidas con los tres métodos para

los 80 verracos *Large White* utilizados durante los últimos tres años como padres en la población porcina analizada. Esta opción, al tratarse de animales seleccionados, tiene el inconveniente de reducir la posible dispersión del mérito genético, y se justifica por la conveniencia de simplificar el análisis, y por la mayor dependencia de la evaluación genética de los machos, que carecen de registros propios de prolificidad, respecto al método seguido en la misma.

Obviamente, los efectos sobre la selección de los distintos métodos van a estar condicionados por el objetivo adoptado en la mejora de la línea seleccionada. Si consideramos primero un objetivo convencional, en que se trata de mejorar globalmente la prolificidad, con independencia del momento de expresión del carácter, el criterio utilizado como medida del mérito genético sería la estima del valor mejorante (EBV) obtenida con el modelo RM, o el promedio (o la suma) de las estimas de los valores mejorantes obtenidas para los distintos partos (EBV_i)

Tabla 3. Estimaciones de heredabilidades ($h^2 = \sigma_u^2/\sigma_p^2$), coeficiente de ambiente permanente ($p^2 = \sigma_p^2/\sigma_p^2$), correlaciones genéticas (encima de la diagonal) y correlaciones entre efectos de ambiente permanente (bajo la diagonal) para número de lechones nacidos vivos en los siete primeros partos obtenidas con empleo de un modelo de regresión aleatoria (RRM)

Table 3. Estimated heritabilities ($h^2 = \sigma_u^2/\sigma_p^2$), permanent environmental coefficients ($p^2 = \sigma_p^2/\sigma_p^2$), genetic correlations (above diagonal) and correlations between permanent environmental effects (under diagonal) for the number of piglets born alive per litter in the first seven parities, obtained fitting a random regression model (RRM)

Parto	1	2	3	Parto 4	5	6	7
1		0,84	0,55	0,37	0,31	0,31	0,33
2	0,90		0,91	0,80	0,71	0,58	0,36
3	0,61	0,90		0,97	0,90	0,72	0,38
4	0,32	0,71	0,95		0,97	0,82	0,47
5	0,13	0,54	0,85	0,97		0,93	0,64
6	0,01	0,42	0,76	0,92	0,98		0,88
7	0,07	0,31	0,65	0,84	0,93	0,98	
h^2	0,11	0,09	0,10	0,11	0,10	0,10	0,14
p^2	0,13	0,10	0,09	0,11	0,13	0,15	0,16

con los modelos MTM y RRM. En este caso, las diferencias entre los tres modelos en términos de decisiones de selección no son muy importantes. Los valores de la correlación entre los méritos genéticos estimados con el modelo RM y los modelos MTM y RRM son 0,87 y 0,97, respectivamente. Si se calcula la correlación entre los respectivos rangos en la ordenación, los correspondientes valores son 0,89 y 0,96, lo que indica que los individuos seleccionados con los distintos métodos serían en su mayor parte coincidentes.

Pero la mejora indiscriminada del tamaño de camada en líneas con una buena prolificidad media es actualmente un planteamiento cuestionado, ya que la selección adicional para tamaño de camada tiende a incrementar la mortalidad perinatal de los lechones al exceder ampliamente el tamaño de muchas camadas la capacidad de crianza de las madres (Knol et al., 2002). Sin embargo, la amplia oscilación del tamaño de camada a lo largo de los sucesivos partos pueden justificar un planteamiento alternativo cuyo objetivo sea mejorar la baja persistencia del carácter observada en los partos más tardíos (figura 1).

En el análisis con el modelo RRM, la proporción de la varianza de los coeficientes de regresión aleatoria genéticos aditivos explicada por los términos lineal y cuadrático del polinomio LG(2) indica que aproximadamente un 3% de la variabilidad fenotípica puede atribuirse a diferencias entre las curvas genéticas individuales de las distintas cerdas. Los modelos MTM y RRM permiten ambos seleccionar individuos para alterar el patrón de respuesta del carácter a lo largo del tiempo, objetivo que no se puede abordar utilizando el clásico modelo RM. Un procedimiento muy simple sería ponderar de forma desigual las estimas de valor mejorante de los primeros partos ($\sum_{t=1,4} EBV_t$) y de los más tardíos ($\sum_{t=5,7} EBV_t$). Por ejemplo, en el caso de asignar una ponderación relativa 1:2 a ambos conjuntos,

los valores de la correlación entre los méritos genéticos estimados con el modelo RM y los modelos MTM y RRM son 0,80 y 0,93, y los correspondientes valores de la correlación entre los respectivos rangos en la ordenación 0,82 y 0,92. En la figura 3 se representan los resultados correspondientes a una ponderación 1:4, en los que los respectivos valores de la correlación absoluta son 0,76 y 0,90, y los de la correlación entre rangos 0,78 y 0,89. Aunque en este caso los tres o cuatro animales de superior mérito genético son coincidentes en los distintos procedimientos, las apreciables discrepancias en los puestos siguientes de la ordenación indican que la selección para persistencia con las técnicas descritas llevaría a la elección como reproductores de grupos de verracos parcialmente distintos. Lógicamente las discrepancias aumentarían con una mayor ponderación relativa de las EBV del grupo de partos más tardío, o con una ponderación más flexible del mérito genético de cada parto que, por ejemplo, penalizase las EBV de los partos segundo a cuarto.

En todo caso, la implementación operativa de estos modelos de evaluación genética MTM y RRM requiere disponer de una importante base de registros reproductivos que comprenda un amplio rango de ordinales de parto. Ello hace inviable el empleo de estos métodos al iniciar un programa de selección basado en registros reproductivos enteramente nuevos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al personal de COPESE (Coca, Segovia) el cuidadoso registro de datos y genealogías, y a las Dras. MJ Carabaño y M Serrano sus valiosos comentarios en relación con el empleo de modelos de regresión aleatoria. El trabajo fue financiado por el proyecto EUREKA-CDTI (96-0174).

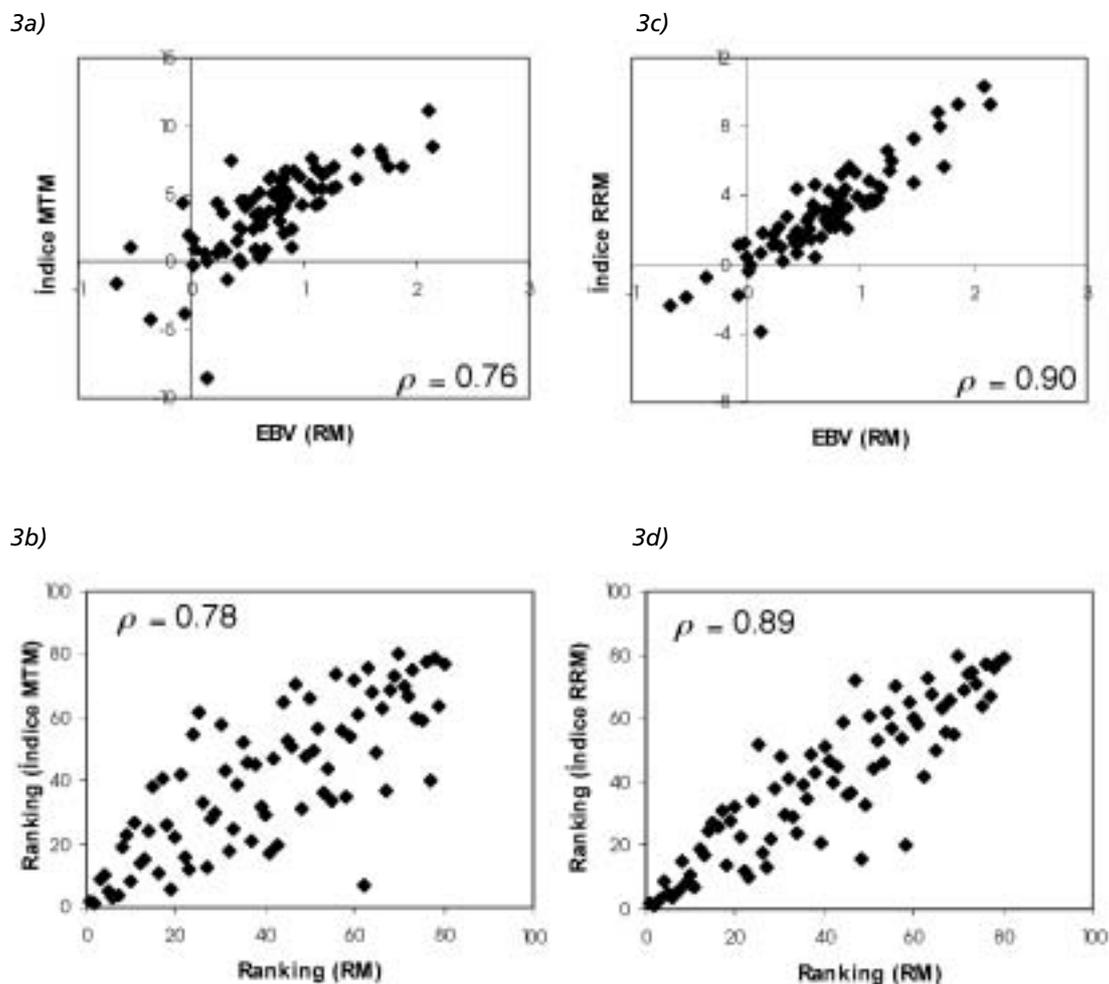


Figura 3. Resultados de evaluación genética de los verracos utilizados como padres en los tres últimos años: 3a) correlación (ρ) entre méritos genéticos determinados mediante estimas de valor mejorante (EBV) obtenidas con el modelo RM y mediante Índice $I = (\sum_{t=1,4} EBV_t + 4 * \sum_{t=5,7} EBV_t)$ calculado a partir de EBV_t obtenidas con modelo MTM; 3b) correlación entre rangos en la ordenación según EBV obtenidas con RM e Índice I calculado a partir EBV_t obtenidas con MTM; 3c) y 3d) correlaciones análogas entre méritos genéticos y entre rangos cuando los valores del Índice I se calcularon a partir EBV_t obtenidas con RRM.

Figure 3. Results of genetic evaluation of boars used as sires along the last three years: 3a) correlation (ρ) between genetic merits determined by estimated breeding values (EBV) obtained under the model RM and by the index $I = (\sum_{t=1,4} EBV_t + 4 * \sum_{t=5,7} EBV_t)$ calculated from the EBV_t obtained under the model MTM; 3b) correlation between rank orders determined by EBV obtained under the model RM and by the index I calculated from the EBV_t obtained under the model MTM; 3c) and 3d) correlations between genetic merits and between rank orders when the values of the index I were calculated from EBV_t obtained under the model RRM.

Bibliografía

- Andersen S, Pedersen B, 1996. Growth and food intake curves for group-housed gilts and castrated male pigs. *Anim. Sci.* 63: 457-464.
- Estany J, Sorensen D, 1995. Estimation of genetic parameters for litter size in Danish Landrace and Yorkshire pigs. *Anim. Sci.* 60: 315-324.
- Fernández A, Rodrigáñez J, Rodríguez MC, Silió L, 2005. Genetic evaluation of mothering ability for multiple parities in Iberian pigs. 56th Annual Meeting of the EAAP, Uppsala, Suecia.
- Fernández A, Rodrigáñez J, Rodríguez MC, Silió L, 2006. Genetic evaluation of litter size for multiple parities in Iberian pigs. 8th World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod., Belo Horizonte, Brasil.
- Haley C, Lee GJ, 1993. Genetic basis of prolificacy in Meishan pigs. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 48: 247-259.
- Hanenberg EHAT, Knol EF, Merks JWM, 2001. Estimates of genetic parameters for reproduction traits at different parities in Dutch Landrace pigs. *Livest. Prod. Sci.* 69: 179-186.
- Kirkpatrick M, Lofsvold D, Bulmer M, 1990. Analysis of the inheritance, selection and evolution of growth trajectories. *Genetics* 124: 979-993.
- Knol EF, Leenhouwers JI, van der Lende T, 2002. Genetic aspects of piglets survival. *Livest. Prod. Sci.* 78: 47-55.
- Kovac M, Groneveld E, 2003. VCE-5 Users' guide and reference manual Version 5.1.
- Lukovic Z, Malovrh S, Gorjanc G, Kovac M, 2004. A random regression model in analysis of litter size in pigs. *South Afr. J. Anim. Sci.* 34: 241-248.
- Moeller SJ, Goodwin RN, Johnson RK, Marbry JW, Baas TJ, Robison OW, 2004. The National Pork Producer Council Maternal Line Genetic Evaluation Program: A comparison of six maternal genetic lines for female productivity measures over four parities. *J. Anim. Sci.* 82: 41-53.
- Noguera JL, Varona L, Babot D, Estany J, 2002. Multivariate analysis of litter size for multiple parities with production traits in pigs: II. Response to selection for litter size and correlated response to production traits. *J. Anim. Sci.* 80: 2548-2555.
- Pérez-Enciso M, Gianola D, 1992. Estimates of genetic parameters for litter size in six strains of Iberian pigs. *Livest. Prod. Sci.* 32: 283-293.
- Petit G, Runavot JP, Gruand J, Legault C, 1988. Evaluation en race pure et en croisement de la lignée hyperproliférique Large White dans un réseau d'élevages de multiplication et de production. *Journées Recherche Porcine en France* 20: 309-314.
- Quaas RL, 1988. Additive genetic model with groups and relationships. *J. Dairy Sci.* 71: 1338-1345.
- Rodríguez C, Rodrigáñez J, Silió L, 1994. Genetic analysis of maternal ability in Iberian pigs. *J. Anim. Breed. Genet.* 111: 220-227.
- Roehe R, 1999. Genetic determination of individual birth weight and its association with sow productivity traits using Bayesian analysis. *J. Anim. Sci.* 77: 330-343.
- Roehe R, Kennedy BW, 1995. Estimation of genetic parameters for litter size in Canadian Yorkshire and Landrace swine with each parity of farrowing treated as a different trait. *J. Anim. Sci.* 73: 2959-2970.
- Rothschild MF, Bidanel JP, 1988. Biology and genetics of reproduction In: *The Genetics of the pig*. Eds. Rothschild and Ruvinsky, CAB International, UK.
- Schaeffer L, 2004. Application of random regression models in animal breeding. *Livest. Prod. Sci.* 86: 35-45.
- Schnyder U, Hofer A, Kunzi N, 2001. Impact of variation in length of individual testing periods on estimation of covariance components of a random regression model for feed intake of growing pigs. *J. Anim. Breed. Genet.* 118: 235-246.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Diversidad filogenética como método de utilidad en programas de conservación de recursos genéticos ganaderos

F. Goyache*, J.L. Carús*, I. Álvarez*, J.P. Gutiérrez**, I. Fernández*, L.J. Royo*

* Área de Genética y reproducción Animal. SERIDA-Somío, C/ Camino de los Claveles 604, 33203-Gijón (Asturias), España. E-mail: fgoyache@serida.org; **Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. Puerta de Hierro s/n, E-28040-Madrid, Spain.

Resumen

El objetivo de esta nota es revisar las características de la metodología de cuantificación de la diversidad conocida como diversidad filogenética (PD), para evaluar su utilización en programas de conservación de recursos genéticos animales. El parámetro PD es uno de los más utilizados en estudios ecológicos pero no se ha utilizado en ganadería. Se ha comparado el rendimiento del método PD con el método filogenético de Weitzman y se ha aplicado a un conjunto de datos consistente en 398 individuos de 11 razas ovinas españolas genotipados para una batería de 14 marcadores microsatélite. Los resultados del método de Weitzman y el método PD tienden a ser similares en los extremos de la ordenación de las razas a efectos de su importancia en la conservación. Sin embargo, el método PD es más sencillo y rápido de calcular, permitiendo su uso rutinario a nivel individual y, además, no asume, al contrario del método de Weitzman, que las distancias deban ser ultramétricas. La utilización del parámetro PD en programas de conservación puede ser ventajosa respecto del método de Weitzman.

Palabras clave: Diversidad, Conservación, Recursos Genéticos, Filogenia, Distancia

Summary

Phylogenetic diversity as a tool in conservation of animal genetic resources

The aim of this note is to overview the characteristics of the Phylogenetic Diversity (PD) method in order to quantify genetic diversity in animal genetic resources conservation programs. The PD method performance has been compared with that of the Weitzman approach on a dataset consisting in 398 individuals belonging to 11 Spanish sheep breeds that were genotyped for a set of 14 microsatellites. Results from the PD and the Weitzman methods are similar. However, the PD method is less computing intensive thus allowing for its use at individual level. Moreover the PD does not need the assumption of ultrametricity of the distances. The use of the PD method in livestock conservation programs can be advantageous with respect the Weitzman approach.

Key words: Diversity, Conservation, Genetic resources, Phylogeny, Distance

Introducción

La conservación de las razas de ganado en peligro ha experimentado un notable impulso desde la década de los 90 del siglo pasado. De las aproximadamente 4500 razas de unas 40 especies ganaderas existentes en el mundo, más de un 30% se encuentran en peligro de extinción (Barker, 1999). Sin embargo, la limitación de los recursos disponibles induce a concentrar los esfuerzos de conservación. Es por ello que la de la diversidad genética que se pierde con una raza de ganado tiene importancia en la planificación de la conservación de recursos genéticos animales (Barker, 1999; Ruane, 1999).

Durante la década de los 90 se ha propuesto la utilización de un número importante de métodos filogenéticos para evaluar la diversidad y establecer prioridades de conservación (Krajewski 1994). Estos métodos se basan en la asunción de que la extinción de un taxón produce una pérdida de diversidad inversamente proporcional a la "cercañía" de los taxones supervivientes con el extinto. Aunque los métodos filogenéticos basados en distancias genéticas ignoran la diversidad intra-poblacional (Krajewski, 1994; Caballero y Toro, 2002) el propuesto por Weitzman (1992) se ha utilizado ampliamente en producción animal (ver Ollivier y Foulley, 2005) tras su primera aplicación en el contexto ganadero realizada por Thaon d'Arnoldi et al. (1998). Sin embargo, el método de Weitzman es de naturaleza recursiva y exige gran esfuerzo de cálculo. Un método más simple sin las limitaciones computacionales del propuesto por Weitzman podría ser ventajoso.

De los métodos filogenéticos disponibles para la evaluación de diversidad el denominado "Diversidad Filogenética" (PD; Faith 1992, 1993, 1994) es el más relevante en estudios ecológicos junto con el denomina-

do "Diversidad Genética" (GD; Crozier, 1992; Crozier y Kusmierski, 1994). Ambos métodos son análogos para la mayor parte de supuestos prácticos (Crozier, 1997). Sin embargo, el método PD no se ha utilizado en conservación de recursos genéticos animales. El objetivo de este trabajo es revisar el potencial del método PD respecto del método Weitzman como herramienta en diversidad ganadera. Utilizaremos como ejemplo un conjunto de razas de ovejas españolas.

Material y métodos

Se han genotipado 398 individuos de 11 razas ovinas españolas (Assaf-E, Castellana, Castellana Negra, Churra, Latxa Cara Negra, Latxa Cara Rubia, Merino, Ojalada, Segureña, Rubia del Molar y Xalda) con una batería de 14 marcadores de tipo microsatélite descrita previamente por Álvarez et al. (2004, 2005). A partir de los genotipos individuales se calculó la matriz de distancias de mínima de Nei entre pares de razas e individuos utilizando el programa MolKin v2.0 (Gutiérrez et al., 2005) tal como se provee en la dirección <http://www.ucm.es/info/prodanim/Molkin2.zip>. A efectos descriptivos se calcularon también las heterocigosis observada (H_o) y esperada (H_e)

El parámetro PD (Faith 1992, 1993, 1994) se define como la suma de las longitudes de los brazos en una filogenia y se calcula,

simplemente, como $PD = \sum_{k=1}^{2n-3} d_k$ donde

n es el número de taxones y d_k es la longitud de la rama k en el árbol. El valor PD para un conjunto de taxones Q (PD_Q) se puede calcular a partir de una matriz de distancias considerando que la distancia entre los taxones i y j , d_{ij} , es la suma de las longi-

tudes de las ramas por el camino más corto entre ellos. La mínima ganancia producida al añadir un taxón k para todo i, j en Q es $PD_{Qk} = 0.5[d(k,i) + d(k,j) - d(i,j)] = d(k, Qk)$ lo que se conoce como *contenido informativo* (I_k). Asimismo, $PD_{Qk} = PD_Q - PD_{Q/k}$ donde Qk es el conjunto de taxones Q formado sin la presencia de k . El indicador del valor (IV) del taxón k es $IV_k = I_k/PD_Q = d(k, Qk)/PD_Q$.

Los resultados obtenidos mediante el método PD se compararán con los obtenidos mediante el método de Weitzman (1992) cuya descripción pormenorizada en el ámbito ganadero se encuentra en Thacon d'Arnoldi et al. (1998). La medida de diversidad de Weitzman (V) para un conjunto de taxones S , $V(S)$, tras añadir un taxón j a S sería $V(S) = d(j, S-j) + V(S-j)$, donde $S-j$ es el conjunto S menos j y $d(j, S-j)$ es la distancia entre j y $S-j$. $V(S)$ se calcula, finalmente, como $V(S) = \text{máximo, para todo } i, \text{ de } \{V(S-i) + d(i, S-i)\}$. La pérdida relativa de diversidad por la eliminación de k del conjunto de taxones estudiado es $V_k = V(S/k)/V(S)$ donde $V(S)$ es la diversidad de todo el conjunto completo y $V(S/k)$ es la diversidad del conjunto una vez excluido k . Estos cálculos se realizaron mediante el programa WEITZPRO (Derban et al., 2002) tal como se encuentra en la página de Internet <http://www.sgqa.jouy.inra.fr/diffusions.htm>.

Se construyeron árboles filogenéticos utilizando el programa MEGA 3.1 (Kumar et al., 2004).

Resultados y discusión

En la tabla 1 se muestran los principales resultados obtenidos en el presente análisis. La raza Castellana presenta los mayores valores de heterocigosis observada y esperada (0,714 y 0,834, respectivamente, que en el total de la población alcanzan valores de 0,652 y 0,755. La menores heterocigosis espe-

radas se encuentran en las razas Assaf-E y Rubia del Molar (0,668 y 0,673, respectivamente). Tanto el análisis de Weitzman como el realizado mediante el parámetro PD mostraron que la mayor pérdida de diversidad se produjo al eliminar del conjunto de razas ovinas analizadas las razas Assaf-E y Rubia del Molar (84,38 y 84,51 para Assaf-E y 85,64 y 90,30 para Rubia del Molar, respectivamente) mientras que las menores pérdidas de diversidad se producía al eliminar las razas Latxa Cara Rubia y Merino. Los coeficientes de correlación de Pearson y Spearman calculados entre V_k y IV_k son muy significativos y de valores de 0,96 y 0,95.

El buen comportamiento computacional del parámetro PD permite calcular la diversidad existente no solo a partir de la matriz de distancias entre razas sino a partir de las distancias entre individuos. Con un procesador Pentium IV a 3 GHz el cálculo de la PD total sobre la matriz de las distancias mínimas de Nei calculadas entre los 398 individuos genotipados duró 0,187 segundos. El cálculo de la pérdida de diversidad para cada individuo necesitó 79,69 segundos. En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos cuando se eliminaron todos los individuos de una misma raza (IV_i). Los resultados están lógicamente influidos por el diferente número de animales genotipados por raza. Las mayores pérdidas de diversidad se producirían al eliminar los 72 individuos de la raza Xalda seguidos de la Castellana y Assaf-E. Los valores de IV_i no presentaron correlación significativa alguna con los de V_k e IV_k .

Como señaló Krajewski (1994) los métodos filogenéticos de cuantificación de la diversidad tienden a seleccionar los mismos conjuntos de taxones en los extremos de la distribución variando en la ordenación intermedia. En este sentido, muchos de los resultados que pueden obtenerse utilizando el método de Weitzman o el parámetro

PD pueden resultar equivalentes. Sin embargo hay razones que permiten aconsejar la utilización de PD.

La definición de distancias utilizada por el método de Weitzman (1992) descansa en la asunción de que la tasa de evolución es constante para todas las ramas de la filogenia, esto es, son distancias ultramétricas (Thaon d'arnoldi et al., 1998). Sin embargo, PD no realiza esta asunción y permite afrontar casos más generales (Faith, 1994). La diferencia de concepto puede apreciarse en la figura 1 que muestra la topología del árbol construido a partir del método de Weitzman y la filogenia "real" obtenida mediante la aplicación del algoritmo del vecino más próximo.

Por otra parte, el cálculo de PD no cumple exactamente con uno de los criterios que cumple el método de Weitzman: el de continuidad en la distancia, de tal manera que un pequeño cambio en los valores de dis-

tancia no debería resultar en grandes cambios en el valor de la diversidad. El parámetro PD se basa fundamentalmente en el principio de complementariedad (Faith, 1994) y puede darse el caso de que un taxón con una distancia no despreciable a su vecino más próximo tenga un aportación a la diversidad del conjunto cercana a cero (Faith, 1994).

Por supuesto, la mayor crítica que se puede realizar a los métodos filogenéticos de cuantificación de la diversidad, que es la de no tener en cuenta la diversidad intrapoblacional (Krajewski, 1994; Caballero y Toro, 2002) no queda resuelta con la utilización de PD. Sin embargo su sencillez computacional permite afrontar su cálculo a cualquier nivel (individuo, raza, grupo de raza) permitiendo un mejor conocimiento de la diversidad existente en el conjunto de datos estudiado.

Tabla 1. Número de individuos genotipados (N), heterocigosis observada (H_o), heterocigosis esperada (H_e), diversidad marginal de Weitzman (V_k), contenido informativo de cada raza basado en el parámetro PD (IV_k) y contenido informativo de los individuos de cada raza (IV_i) en porcentaje por cada raza

Table 1. Number of genotyped individuals (N), observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosity, Weitzman's marginal diversity (V_k), informative content based on the parameter PD (IV_k) and information content of the individuals of a breed (IV_i)

Raza	N	H_o	H_e	V_k (%)	IV_k (%)	IV_i (%)
Assaf-E	42	0,637	0,668	84,38	84,51	89,94
Castellana	39	0,714	0,834	93,2	96,55	89,61
Castellana Negra	30	0,645	0,759	91,41	94,72	93,79
Churra	36	0,660	0,758	89,44	91,95	91,16
Latxa Cara Negra	34	0,595	0,708	91,44	95,46	93,06
Latxa Cara Rubia	33	0,660	0,740	95,61	98,09	93,10
Merino	31	0,643	0,780	94,6	98,59	92,41
Ojalada	30	0,676	0,743	85,17	86,62	93,59
Segureña	17	0,702	0,771	92,08	94,08	93,96
Rubia del Molar	34	0,596	0,673	85,64	90,30	95,50
Xalda	72	0,644	0,776	94,03	96,10	83,29
TOTAL	398	0,652	0,755			

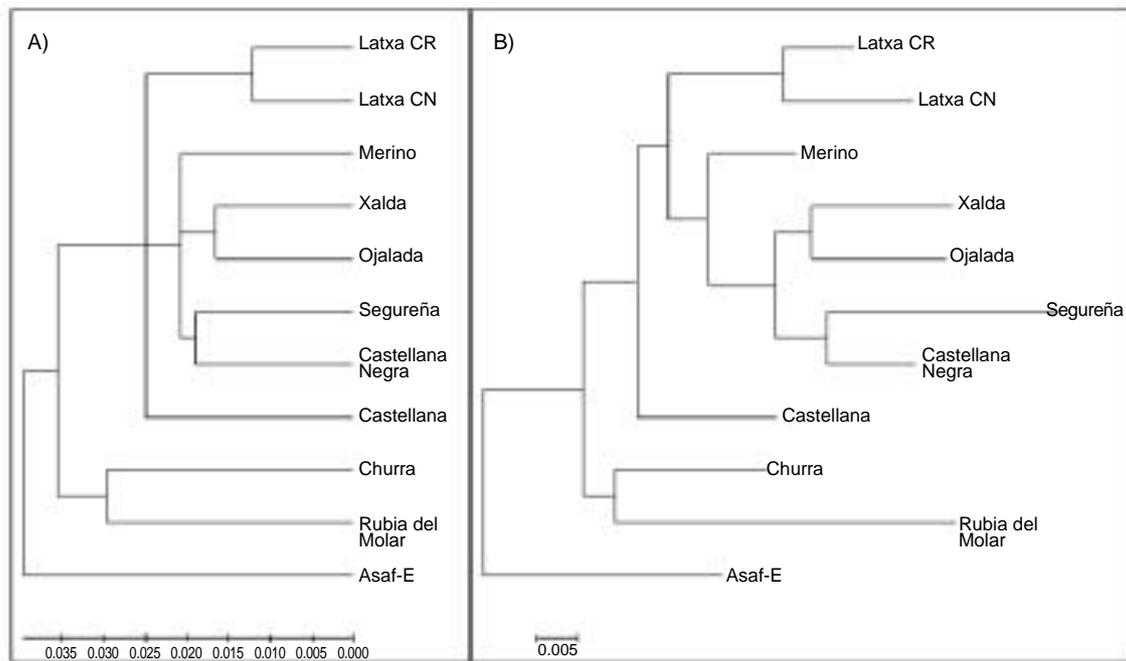


Figura 1. Árboles filogenéticos construidos a partir de la matriz de distancias mínimas de Nei en 11 razas ovinas españolas mediante: a) el método de Weitzman; y b) el método del vecino más próximo.
 Figure 1. Phylogenetic trees constructed from the between sheep breeds Nei's minimum distance using: a) the topology obtained using the Weitzman approach; and b) the neighbour-joining algorithm.

Agradecimientos

Este trabajo se ha financiado parcialmente mediante el proyecto INIA RZ2004-00007-C02. La estancia de Juan Luis Carús en el Área de Genética y Reproducción Animal del SERIDA amparada en un Convenio de Colaboración suscrito entre la Universidad de Oviedo (Escuela de Ingenieros Técnicos de Telecomunicaciones) y el SERIDA.

Bibliografía

Álvarez I, Royo LJ, Fernández I, Gutiérrez JP, Gómez E, Goyache F, 2004. Genetic relationships and admixture between six Northern Spain sheep breeds assessed through microsatellites. *J. Anim. Sci.* 82: 2246-2252.

Álvarez I, Gutiérrez JP, Royo LJ, Fernández I, Gómez E, Arranz JJ, Goyache F, 2005. Testing the usefulness of the molecular coancestry information to assess genetic relationships in livestock using a set of Spanish sheep breeds. *J. Anim. Sci.* 83: 737-744.

Barker JSF, 1999. Conservation of livestock breed diversity. *AGRI* 25: 33-43.

Caballero A, Toro MA, 2002. Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. *Conserv. Genet.* 3: 289-299.

Crozier RH, 1992. Genetic diversity and the agony of choice. *Biol. Conserv.* 61: 11-15.

Crozier RH, Kusmierski RM, 1994. Genetic distances and the setting of conservation priorities. In Loeschcke V, Tomiuk J, Jain SK, eds. 1994. *Conserv. Genet.* Basel: Birkhäuser Verlag, pp. 227-37.

- Crozier RH, 1997. Preserving the information content of species: genetic diversity, phylogeny and conservation worth. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 28: 243-268.
- Derban S, Foulley JL, Ollivier L, 2002. WEITZPRO: a software for analysing genetic diversity. INRA, Paris.
- Faith DP, 1992. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biol. Conserv.* 61: 1-10.
- Faith DP, 1993. Biodiversity and systematics: the use and misuse of divergence information in assessing taxonomic diversity. *Pac. Conserv. Biol.* 1: 53-57
- Faith DP, 1994. Genetic diversity and taxonomic priorities for conservation. *Biol. Conserv.* 68: 69-74
- Gutiérrez JP, Royo LJ, Álvarez I, Goyache F, 2005a. MolKin v2.0: a computer program for genetic analysis of populations using molecular coancestry information. *J. Hered.* 96: 718-721.
- Krajewski C, 1994. Phylogenetic measures of biodiversity : a comparison and critique. *Biol. Conserv.* 69: 33-39.
- Kumar S, Tamura K, Nei M, 2004. MEGA3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5: 150-163.
- Ollivier L, Foulley J-L, 2005. Aggregate diversity: New approach combining within- and between-breed genetic diversity. *Livest. Prod. Sci.* 95: 247-254.
- Ruane J, 1999. A critical review of the value of genetic distance studies in conservation of animal genetic resources, *J. Anim. Breed. Genet.* 116: 317-323.
- Thaon d'Arnoldi C, Foulley J-L, Ollivier L, 1998. An overview of the Weitzman approach to diversity, *Gen. Sel. Evol.* 30: 149-161.
- Weitzman ML. 1992. On diversity, *Quart. J. Econ.* 107: 363-405.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Pérdidas de diversidad genética en la raza ovina Xalda de Asturias debidas a la selección contra la susceptibilidad al scrapie

I. Álvarez*, L.J. Royo*, J.P. Gutiérrez**, J.J. Arranz***, I. Fernández*, F. Goyache*

* Área de Genética y reproducción Animal. SERIDA-Somío, C/ Camino de los Claveles 604, 33203-Gijón (Asturias), e-mail: fgoyache@serida.org.

** Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040-Madrid, Spain.

*** Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071-León.

Resumen

Este trabajo pretende evaluar el efecto de la selección contra la susceptibilidad al scrapie en la variabilidad genética de la raza ovina Xalda de Asturias mediante el uso de información genealógica y molecular. El Libro Genealógico de la raza Xalda incluía 1851 animales (1444 vivos). Se muestrearon 304 animales y se genotiparon con 14 microsatélites. La variabilidad genética se evaluó mediante la heterocigosis esperada (H_e ; obtenida a partir de información molecular) y *gene diversity* (GD; obtenida a partir de información genealógica). Se identificaron los animales nacidos en la última estación de partos y seleccionados para reproductores. Las pérdidas de variabilidad genética se calcularon incluyendo o no el genotipo de scrapie como un criterio añadido a la selección. La inclusión del genotipo de scrapie como criterio de selección produce pérdidas añadidas de más de un 2% para H_e en las hembras. En cuanto a los machos, la situación es más crítica debido al pequeño número de carneros disponibles de genotipo ARR/ARR. Se discuten las consecuencias para el manejo de la raza Xalda.

Palabras clave: Variabilidad genética, Información genealógica, Microsatélites, Programa de conservación, PrP.

Summary

Losses of genetic diversity in the rare Xalda sheep breed due to the implementation of a selective policy including the increase of resistance to scrapie

The aim of this note was to assess the effect of selection to reduce sensitivity to scrapie on the genetic variability in the rare Xalda sheep breed of Asturias using genealogical and molecular information. Pedigree information comprised 1851 animals (1444 alive) at the moment of sampling. A total of 304 reproductive (or selected for reproduction) Xalda individuals were sampled and genotyped for 14 microsatellites. Genetic variability was assessed via expected heterozygosity (H_e ; obtained from molecular information) and gene diversity (GD; obtained from genealogical information). The individuals born during the last lambing season and further selected for reproduction were identified. Losses of genetic variability in the Xalda breed were computed considering the scrapie genotype as an additional selection criterion or not. Selection against sensitivity to scrapie produces additional losses of more than 2% for H_e in the females. Regarding the males, the situation becomes critical because of the little available number of ARR/ARR rams. Consequences on the management of the Xalda breed are discussed.

Key words: Genetic variability, Genealogical information, Microsatellites, Conservation program, PrP.

Introducción

Las mutaciones identificadas en el codón 136, 154 y 171 de la región codificante del gen prión en la oveja (PrP) han demostrado cierta relación con el grado de susceptibilidad al scrapie en la oveja (Hunter, 1997; Elsen et al., 1999; O'Doherty et al., 2002) y, en general, se acepta que las mutaciones que codifican A₁₃₆ y R₁₇₁ (alanina y arginina en los correspondientes codones, respectivamente) confieren resistencia y las que codifican V₁₃₆ y Q₁₇₁ (valina y glutamina en los correspondientes codones, respectivamente) producen mayor susceptibilidad al scrapie. La Unión Europea ha clasificado los alelos y los genotipos del scrapie según las mutaciones que se encuentren en los codones 136, 154 y 171 según su sensibilidad al scrapie y prevé la ejecución de programas de selección tendentes a incrementar la frecuencia del alelo ARR y el genotipo ARR/ARR y la eliminación del alelo VRQ. Por otra parte, el alelo ARQ, que suele ser el más frecuente en razas de lana basta (Gama et al., 2006) se ha asociado al mayor riesgo de aparición de encefalitis espongiiforme bovina (BSE) en ovejas (Baylis, 2002).

La protección de la base genética de una población en riesgo se suele realizar a partir de los valores de consanguinidad (Windig et al., 2004). Sin embargo, este parámetro es muy dependiente de la calidad del pedigrí, por lo que otros autores (Caballero y Toro, 2000, 2002) utilizan como criterio la heterocigosis esperada. Por otra parte, Caballero y Toro (2002) han formalizado la obtención de coeficientes de coascendencia a partir de información molecular.

Los estudios sobre el efecto de los programas de selección tendentes a reducir la susceptibilidad al scrapie sobre la variabilidad genética de razas ovinas en peligro son escasos (Windig et al., 2004). Nuestro objetivo es evaluar el efecto sobre la variabilidad

genética en la raza Xalda (Álvarez Sevilla et al., 2004; Goyache et al., 2003) de un programa de selección contra la susceptibilidad al scrapie que cumpla con los siguientes intereses de los criadores de esta raza agrupados en ACOXA: a) cumplir con los requisitos de la Unión Europea; y b) reducir la frecuencia del alelo ARQ para reducir el riesgo para la salud humana.

Material y métodos

Se ha analizado el Libro Genealógico de la oveja Xalda que incluye un total de 1851 animales de los que 1444 (134 machos) estaban vivos en el momento del análisis. Los animales vivos se agruparon en las siguientes categorías: a) machos jóvenes (MJ; 11) b) hembras jóvenes (HJ; 182); c) machos adultos (MA; 123); y d) hembras adultas (HA; 1128). Las categorías MJ y HJ incluyeron los individuos nacidos en la última estación de partos y seleccionados como reproductores por los ganaderos, mientras que las categorías MA y HA incluyeron los animales con capacidad reproductiva de la población presente. Se obtuvieron muestras de sangre de 304 individuos de raza Xalda provenientes de 58 rebaños diferentes y se asignaron a los correspondientes grupos: MJ (11), HJ (33), MA (48) y HA (212). Se extrajo el ADN total mediante procedimientos estándar y se genotiparon las muestras con 14 marcadores microsatélites (BM8125, BM6526, CP34, BM757, INRA006, BM6506, BM1818, FCB128, CSSM31, CSSM66, ILSTS011, McM53, RM006, ILSTS005) en la forma descrita por Álvarez et al. (2004; 2005b). ACOXA aportó los genotipos de scrapie de los animales HJ y MJ, analizados en el Laboratorio de Algete del Ministerio de Agricultura, que fueron clasificados en los grupos de riesgo (desde R1, muy bajo, a R5 el mayor riesgo) definidos por la Unión Euro-

pea. Los animales MJ y HJ seleccionados según su genotipo de scrapie se denominaron MJs y HJs.

A partir de la información genealógica disponible se calculó la matriz de coascendencias entre los animales mediante el programa ENDOG v3.0 (Gutiérrez y Goyache, 2005), tal como se provee en la dirección <http://www.ucm.es/info/prodanim/Endog30.zip>, y se promedió para cada grupo de individuos: MA, HA, MJ, HJ, MJs y HJs. La heterocigosis esperada obtenida a partir de información genealógica (GD) se calculó como $GD = 1 - \bar{f}$ (Caballero y Toro, 2000), siendo \bar{f} la coascendencia media de los animales de cada grupo. A partir de los genotipos individuales se calculó la heterocigosis esperada (H_e) en cada grupo de individuos utilizando el programa MolKin v2.0 (Gutiérrez et al., 2005) tal como se provee en la dirección <http://www.ucm.es/info/prodanim/Molkin2.zip>.

Se evaluó una estrategia que no incluyera el genotipo del scrapie en la selección de animales MJ y HJ en comparación con otra que solo permitiera la selección de animales HJ

de genotipo ARR/ARR y animales HJ con genotipos incluidos en los grupos de riesgo R1, R2 y R3. Los valores obtenidos para GD y H_e en los grupos MJ, HJ, MJs y HJs se compararon con los correspondientes valores en los grupos MA y HA que fueron considerados representativos de la variabilidad genética existente en la raza.

Resultados y discusión

Las frecuencias genotípicas para el gen PrP en los individuos MJ y HJ se muestran en la tabla 1. Solo se encontraron 8 de los 15 genotipos posibles. El genotipo ARQ/ARQ fue el más frecuente (55,4%) mientras que el ARR/ARR solo estuvo presente en el 5,7% de los individuos (sólo dos machos jóvenes). El genotipo ARR/ARQ estaba presente en, aproximadamente, un tercio de los individuos. Las frecuencias obtenidas son similares a las presentadas previamente por Álvarez et al. (2005a) en la raza Xalda y a las que se encuentran en otras razas ibéricas de lana basta (Gama et al., 2006).

Tabla 1. Clasificación de los genotipos PrP en grupos de riesgo, descripción del grupo y frecuencias genotípicas para el gen PrP en los individuos MJ y HJ (ver texto). Las frecuencias genotípicas se ofrecen en valores absolutos y porcentajes (entre paréntesis)

Table 1. Classification of PrP genotypes into risk groups, risk description and genotype frequencies for the PrP gene in MJ and HJ (see text) individuals. Frequencies are given in absolute values and as percentages (in brackets)

Genotipo	Grupo de riesgo	Descripción del riesgo		Individuos		
		individual	en la descendencia	MJ	HJ	Total
ARR/ARR	R1	Muy baja	Muy baja	2 (18,18)	9 (4,95)	11 (5,70)
ARR/AHQ	R2	Baja	Baja		1 (0,55)	1 (0,52)
ARR/ARH	R3	Baja	No baja		1 (0,55)	1 (0,52)
ARR/ARQ				1 (9,09)	60 (32,97)	61 (31,61)
ARR/VRQ	R4	Enfermedad diagnosticada ocasionalmente	El riesgo es más alto que en el grupo R3	2 (1,1)	99 (54,4)	2 (1,04)
ARQ/ARQ				8 (72,73)	7 (3,85)	107 (55,44)
ARQ/ARH					7 (3,85)	7 (3,63)
ARQ/VRQ	R5	Alto riesgo	Alto riesgo		3 (1,65)	3 (1,55)

Las heterocigosis esperada y GD para el total de la población analizada fueron de, respectivamente, 0,685 y 0,987 (tabla 2). La relación entre los valores de H_e y GD que se muestran para cada grupo en la tabla 2 se detallan gráficamente en la figura 1 como porcentaje de la variabilidad genética de los grupos MA y HA retenidas por los grupos, respectivamente, HJ y HJs (imagen A) y MJ y MJs (imagen B). Los individuos HJ retienen el 92,64% de valor de los animales HA para el parámetro H_e y el 99,48% para GD. Los animales HJs retuvieron, a su vez, más del 97,5% de la variabilidad calculada en los animales HJ para H_e y GD. Los ratios correspondientes a los grupos MJ y MJs siguen un patrón parecido: los animales MJ retuvieron el 97,07% y 100% de la variabilidad de los animales para H_e y GD. Los animales MJs retuvieron, a su vez, el 79,89% y 98,75% de los valores de H_e y GD en el grupo MA.

El presente análisis asume que la mayor causa de pérdidas de variabilidad genética en la raza Xalda es la deriva producida cuando se selecciona un nuevo grupo de

animales para reproducción. En la raza Xalda no hay una política de apareamientos estricta para minimización del parentesco de los reproductores y las decisiones se toman a nivel de rebaño (Goyache et al., 2003). Los nuevos requisitos de selección contra la susceptibilidad al scrapie deben evaluarse sobre las pérdidas de deriva por selección ya asumidas. Las pérdidas añadidas de variabilidad genética en los animales HJ respecto del grupo HA son de alrededor del 5% para la información molecular y prácticamente nulas para la información genealógica con unas pérdidas adicionales de H_e en los animales HJs de algo más de un 2%. La situación en los machos es más preocupante porque solo hay dos machos en el grupo MJs lo que provoca que sus valores de H_e sean el 20% menores que los del grupo MJ lo que puede limitar las posibilidades de mantenimiento de la raza a largo plazo. En este sentido, la ejecución de un programa de selección contra la susceptibilidad al scrapie en la raza Xalda debe incluir apareamientos dirigidos a obtener machos ARR/ARR.

Tabla 2. Valores de H_e y GD en los grupos de individuos de raza Xalda definidos en el texto según edad (adultos o jóvenes) y sexo (machos o hembras). En el caso de machos y hembras jóvenes (MJ y HJ, respectivamente) se muestran los valores obtenidos cuando se tiene en cuenta el genotipo de scrapie como criterio de selección (MJs y HJs, respectivamente)

Table 2. Values for H_e and GD in the groups of Xalda individuals defined according to age (adult or young) and sex (male and female). For young males and young females (MJ and HJ, respectively) the values obtained when the genotype of scrapie is used as a selection criterion (MJs and HJs, respectively), are also shown

Grupo	H_e	GD
HA	0,699	0,987
MA	0,693	0,981
HJ	0,648	0,982
MJ	0,672	0,982
HJs	0,631	0,981
MJs	0,537	0,970
Total	0,685	0,987

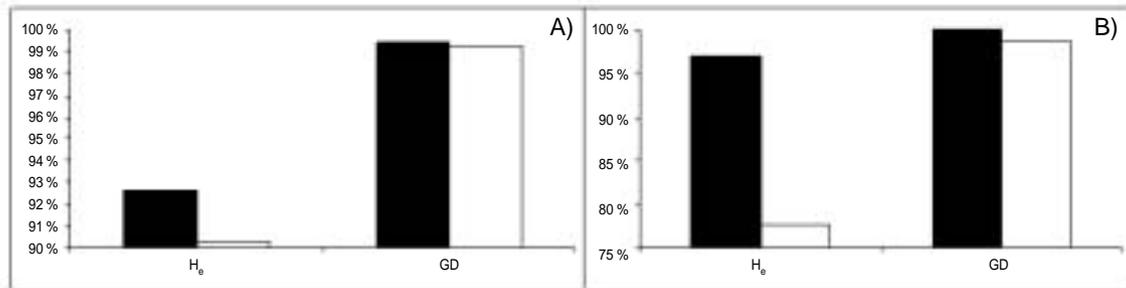


Figure 1. Porcentaje de variabilidad genética (expresada como H_e y GD, ver texto) retenida por los grupos HJ y HJs (imagen A) y MJ y MJs (imagen B) respecto de variabilidad genética existente, respectivamente, en los grupos HA y MA. Los porcentajes relativos a los grupos no seleccionados por el genotipo de scrapie se muestran en barras negras y los de los grupos MJs y HJs en barras blancas.
 Figure 1. Percentage of genetic variability (measured as H_e and GD, see text) retained by the groups HJ and HJs (plot A) and MJ and MJs (plot B) with respect the genetic variability assessed, respectively, within the groups HA and MA. The percentages concerning the MJ and HJ groups are shown in black bars and those concerning the MJs and HJs groups are shown in open bars.

Agradecimientos

Este trabajo se ha financiado mediante los proyectos MEC-INIA RZ2004-00007-C02 y PC-REC04-27 del Gobierno del Principado de Asturias. Los autores agradecen a la asociación de criadores ACOXA (<http://www.xalda.com/>) su total colaboración.

Bibliografía

- Álvarez I, Royo, LJ Fernández I, Gutiérrez JP, Gómez E, Goyache F, 2004. Genetic relationships and admixture between six Northern Spain sheep breeds assessed through microsatellites. *J. Anim. Sci.* 82: 2246-2252.
- Álvarez I, Fernández I, Goyache F, Arranz JJ, Gutiérrez JP, Gómez E, Royo LJ, 2005a. Frecuencias alélicas y genotípicas del gen PRP en la raza ovina Xalda de Asturias en relación con el color de la capa. *ITEA* 26 Vol. Extra I: 75-77.
- Álvarez I, Gutiérrez JP, Royo LJ, Fernández I, Gómez E, Arranz JJ, Goyache F, 2005b. Testing the usefulness of the molecular coancestry information to assess genetic relationships in livestock using a set of Spanish sheep breeds. *J. Anim. Sci.* 83: 737-744.
- Álvarez Sevilla A, Gutiérrez JP, Fernández I, Royo LJ, Álvarez I, Gómez E, Goyache F, 2003. Conservación de la oveja Xalda de Asturias. *AGRI* 34: 41-49.
- Baylis M, 2002. The BSE-susceptible proportion of UK sheep. *Vet. Record* 151: 481-482.
- Caballero A, Toro MA, 2000. Interrelations between effective population size and other pedigree tools for the management of conserved populations. *Genet. Res. Camb.* 75: 331-343.
- Caballero A, Toro MA, 2002. Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. *Conserv. Genet.* 3: 289-299.
- Elsen JM, Amigues Y, Schelcher F, Ducrocq V, Andreoletti O, Eychenne F, Tien Khang JV, Poivey JP, Lantier F, Laplanche JP, 1999. Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie: detailed analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. *Archives of Virology* 144, 431-445.
- Gama LT, Carolino MI, Santos-Silva MF, Pimenta JA, Costa MS, 2006. Prion protein polymor-

- phisms and breeding strategies in Portuguese breeds of sheep. *Livestock Science* 99, 175-184.
- Goyache F, Gutiérrez JP, Fernández I, Gómez E, Álvarez I, Díez J, Royo LJ, 2003. Monitoring pedigree information to conserve the genetic variability in endangered populations: the Xalda sheep breed of Asturias as an example. *J. Anim. Breed. Genet.* 120: 95-103.
- Gutiérrez JP, Goyache F, 2005. A note on ENDOG: a computer program for analysing pedigree information. *J. Anim. Breed. Genet.* 122: 357-360.
- Gutiérrez JP, Royo LJ, Álvarez I, Goyache F, 2005a. MolKin v2.0: a computer program for genetic analysis of populations using molecular coancestry information. *J. Hered.* 96: 718-721.
- Hunter N, 1997. Molecular biology and genetics of scrapie in sheep. In: Piper, L., Ruvinsky, A. (Eds.), *The Genetics of Sheep*. CAB International.
- O'Doherty E, Healy A, Aherne M, Hanrahan JP, Weavers E, Doherty M, Roche JF, Gunn M, Sweeney, T., 2002. Prion protein (PrP) gene polymorphisms associated with natural scrapie cases and their flock-mates in Ireland. *Research in Veterinary Science* 73, 243-250.
- Windig JJ, Eding H, Moll L, Kaal L, 2004. Effects on inbreeding of different strategies aimed at eliminating scrapie sensitivity alleles in rare sheep breeds in The Netherlands. *Animal Science* 79, 11-20.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Evaluación de un panel de microsatélites para el control de filiación en razas caprinas españolas de aptitud cárnica

P.J. Azor*, M. Luque**, M. Valera***, M. Herrera****, A. Membrillo*, E. Rodero****, A. Molina*

* Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. Edif. Mendel, Pl. Baja. Campus de Rabanales. Ctra. N-IV Km 396a. 14071. Córdoba. España. E-mail: ge2azorp@uco.es

** Departamento de Agricultura. Dirección de Producción y Sanidad Animal. FAO. Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Roma. Italia.

*** Departamento de Ciencias Agroforestales. EUITA Universidad de Sevilla. España.

**** Departamento de Producción Animal. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. Ctra. N-IV Km. 396a. 14071. Córdoba. España

Resumen

Hemos evaluado el potencial de 20 microsatélites para la realización de los controles de filiación (paternidad y/o maternidad) de las razas caprinas españolas de aptitud cárnica. En base a sus condiciones técnicas hemos seleccionado nueve para este fin para poder compatibilizar la eficiencia con el coste económico. La mayor parte de los marcadores son de origen bovino. De los marcadores seleccionados se han calculado los valores del Contenido de Información Polimórfica (PIC), y las probabilidades de exclusión (PE), por marcador y conjuntas, de un progenitor falso dado como verdadero a partir de las frecuencias alélicas de 30 individuos no emparentados de cada una de las 6 razas caprinas españolas de aptitud cárnica estudiadas (un total de 180 individuos): Moncaína, Blanca Andaluza, Negra Serrana, Blanca Celtibérica, Pirenaica y Azpi Gorri. Todos los marcadores seleccionados han sido informativos en estas razas. La probabilidad de exclusión conjunta cuando solo un progenitor es conocido ha oscilado entre el 96,4 % en la raza Moncaína y 98,9 % en la raza Blanca Celtibérica siendo en todas las razas superior al 99% cuando se conocen los dos progenitores y queremos testar si la descendencia está asignada correctamente.

Palabras clave: Prueba de paternidad, probabilidades de exclusión, microsatélite, *C. hircus*

Summary

Assessment of a microsatellite marker set for parentage testing in six Spanish goat breeds

We have analysed 20 microsatellite markers on six Spanish goat populations bred for meat production. Nine loci were selected for parentage testing due to technical reasons. Polymorphic Informative Content (PIC) and parentage exclusion probabilities per marker and for the whole marker set were computed on allele frequencies from a total of 180 unrelated individuals (30 per breed) belonging to six Spanish goat breeds: Moncaína, Blanca Andaluza, Negra Serrana, Blanca Celtibérica, Pirenaica and Azpi Gorri. The nine markers selected were informative. In order to quantify the usefulness of the microsatellite set for parentage testing, we calculated exclusion probabilities for the two most likely scenarios: a) combined probability of exclusion of a parent when the other is known; and b) combined probability of exclusion when both parent are known and one of them is false. The exclusion probability for the scenario a) varied from 96.4 % (Moncaína breed) to 98.9 % (Blanca Celtibérica breed); the exclusion probabilities for the scenario b) were always higher than 99%.

Key words: paternity testing, exclusion probabilities, microsatellites, *C. hircus*

Introducción

La cría en sistemas de explotación extensivos de las razas caprinas de carne constituye una opción de aprovechamiento de las zonas de producción más marginales, principalmente zonas de montaña, no aptas para cultivos o el aprovechamiento por otras ganaderías. Este tipo de explotación está dirigido a la obtención de un cabrito paschal o lechal en función de factores no dependientes del productor. Todas las razas de aptitud cárnica que se explotan en España están catalogadas como razas de protección especial y sus censos siguen en franca regresión a pesar de representar unos recursos genéticos de gran relevancia por su especial adaptación al medio en que se desenvuelven y constituyen una base para la fijación de población en el territorio. En la cabaña actual existe una preocupante tasa de cruzamiento entre ellas y con razas de aptitud lechera. La realización del Proyecto de Investigación "Caracterización y evaluación de razas caprinas autóctonas españolas de orientación cárnica" (RZ01-010-C3), INIA, Ministerio de Educación y Ciencia, ha permitido constatar el estado actual de estas razas en estos tres últimos años (Azor et al., 2005).

En los últimos tiempos se asiste a una reorganización del sector en el que la Administración está jugando un papel muy importante. Se han formado las Asociaciones de Ganaderos de cada una de las razas para la llevanza de los respectivos Libros Genealógicos así como establecer unos planes de conservación y mejora de las mismas. La reorganización de los agentes implicados en la conservación y la recuperación de las razas adaptadas a hábitat de especiales características, configuran un punto de partida prometedor si se perfilan objetivos de selección compatibles con las condiciones del medio en que se mantienen y apuestan

por la obtención de un producto de calidad, la canal de un cabrito diferenciada.

Para ello se hace imprescindible la valoración y calificación de los animales para su reconocimiento de pertenencia a una raza determinada y poder ser inscritos en el correspondiente Libro Genealógico. Por todo ello y siendo la integridad del pedigrí, esencial en cualquier plan de cría que se lleve a cabo, hemos estudiado un panel de marcadores moleculares de tipo microsatélite común a seis razas caprinas españolas de aptitud cárnica (Negra Serrana, Blanca Celtibérica, Azpi Gorri, Blanca Andaluza, Moncaína y Pirenaica) con el fin de asegurar y verificar la correcta asignación de paternidades y maternidades de los animales que se inscriban en los libros genealógicos.

Los marcadores de ADN, y en especial los microsatélites, dado su elevado nivel de polimorfismo, resultan útiles para definir un único genotipo multi/locus, de particular interés en estudios donde se requiera una escala muy fina de resolución y en los cuáles otros tipos de marcadores podrían presentar algunas limitaciones, siendo especialmente estos estudios los referidos a: análisis de paternidades, parentescos, asignación de individuos a raza, planificación de apareamientos y otros aspectos de índole reproductiva (Jones et al., 1986). Todos ellos deben reunir una serie de características que maximizen su utilidad (Cheng y Crittenden, 1994).

El número de microsatélites que deberían ser usados en los controles de filiación es todavía objeto de discusión y depende de las características de cada locus y de la variabilidad de la raza objeto de estudio (Double et al., 1997).

El objetivo de este trabajo es proponer un panel de microsatélites para su uso rutinario de una forma fiable, fácil y barata en los controles de filiación de la cabaña caprina española de aptitud cárnica.

Material y métodos

Toma de muestras

Hemos utilizado 30 animales no emparentados y pertenecientes a diferentes ganaderías de cada una de las seis razas estudiadas. En total se han muestreado 180 animales. La raza Negra Serrana (NS) fue muestreada en las provincias de Albacete y Jaén, la Blanca Celtibérica (BC) en Albacete y Murcia, de la raza Blanca Andaluza (BA) se tomaron muestras en varias provincias de Andalucía, de las razas Pirenaica (PI) y Moncaína (MO) los animales muestreados fueron de Aragón y los animales muestreados de la raza Azpi Gorri (AG) fueron del País Vasco.

A estos animales se les tomó una muestra de sangre mediante punción de la vena yugular utilizando tubos Vacutainer de 5 ml con EDTA_{K₂}. Las muestras fueron almacenadas congeladas hasta la extracción del ADN.

Extracción de ADN y amplificación de los microsatélites

El DNA se extrajo de sangre utilizando el método "salting out" (Miller *et al.*, 1988) o utilizando Chelex 100 Resin, según describió Walsh *et al.* (1991) añadiéndole proteinasa K.

Se han amplificado 20 microsatélites: BM2504, BMS2626, BMS356, BMS522, BMS975, CSSRM60, CSSM008, CSSM015, CSSM43, CSSRM66, ETH225, HMH1R, ILSTS011, INRA026, LSCV29, MCM527, OARCP23, RBP3, TGLA126 y TGLA53. Casi todos ellos son de origen bovino y han sido amplificados en ganado ovino (Azor *et al.*, 2004; Bragança *et al.*, 1999; Valle *et al.*, 2004).

Las reacciones de amplificación *in Vitro* de los fragmentos de ADN se llevaron a cabo en tubos de 0,2 mL en un termociclador de gradiente Mastercycler® eppendorf utilizando 30 ciclos de desnaturalización a 95° C

(5 min), hibridación a una temperatura entre 55 y 60° C durante 30 segundos y un paso de extensión a 72° C durante 30 segundos. El primer paso de desnaturalización se llevó a cabo a 95° C durante 5 min y el último paso de extensión se prolongó durante 1 hora a 72° C.

La mezcla de PRC de volumen final de 10 µL contenía buffer de PCR 1X, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de mezcla de dNTPs, de 0,2 a 2 pmol de cebadores marcados con fluorocromos y cebadores sin marcar y 1U de *Taq* Polimerasa (Biotools®). Las amplificaciones se llevaron a cabo en seis reacciones múltiples de PCR. Los fragmentos fueron separados en un secuenciador automático capilar ABI 3100 y posteriormente tratados con el programa informático Genotyper 3.7.

Análisis estadístico

Con el objeto de evaluar la capacidad de los 20 microsatélites y elegir un panel reducido de ellos, pero lo suficientemente poderoso para su uso en los controles de filiación de las razas caprinas españolas de aptitud cárnica, hemos calculado las probabilidades de exclusión para dos situaciones que se presentan de forma común en esta especie. En el primer caso hemos calculado la probabilidad de exclusión cuando un progenitor es conocido, que casi siempre suele ser la madre, y tenemos que testar si el padre es el padre biológico (PE_A). Para ello hemos utilizado la fórmula 1a de Jameison y Taylor (1997). En el segundo caso hemos calculado la probabilidad de exclusión cuando ambos padres son conocidos y queremos testar si la descendencia está falsamente asignada (PE_B). En este caso hemos utilizado la fórmula de Chakravarti y Li (1983). Los cálculos de las probabilidades de exclusión se han realizado para cada marcador en cada una de las razas, así como de forma conjunta (PE_C) para el panel de marcadores en cada

una de las razas. Para ello hemos utilizado el programa informático Cervus 2.0 (Marshall et al., 1998).

El contenido de información polimórfica (PIC) ha sido calculado mediante el método descrito por Botstein et al. (1980) utilizando el programa informático Molkin (Gutiérrez et al., 2005).

Resultados

De todos los datos obtenidos de los 20 microsatélites utilizados, hemos seleccionado un panel de nueve con el que se consigue un poder suficiente para su utilización de forma sistemática en los controles de filiación en esta especie. Los resultados obtenidos indican que todos los marcadores utilizados han sido polimórficos. La diversidad alélica de los marcadores seleccionados ha oscilado entre 6,67 en la raza Blanca Andaluza y 9,11 en la raza Azpi Gorri. Los valores del PIC oscilaron entre 0,381 del marcador TGLA53 en la raza Moncaína y 0,875 del marcador CSSRM66

en la raza Azpi Gorri. Todos los marcadores han sido altamente informativos salvo el marcador BMS975 en la raza Blanca Celtibérica y el marcador TGLA53 en las razas Moncaína, Negra serrana, Pirenaica y Azpi Gorri en las que ha manifestado ser medianamente informativo (Botstein et al., 1980). En las razas Blanca Andaluza y Blanca Celtibérica todos los marcadores fueron altamente informativos (tabla 1). Los valores de probabilidad de exclusión conjunta cuando se desconoce uno de los progenitores (PE_c) han oscilado entre 96,4 % la raza Moncaína y 98,9 % en la raza Blanca Celtibérica. Los valores inferiores de PE_c se corresponden con las razas que presentan los valores de heterocigosidad esperada más bajos (datos no mostrados). Lo mismo ocurre con los valores de PE_c cuando los dos progenitores son conocidos. En todas las razas analizadas los valores de probabilidad de exclusión conjunta cuando se conocen el padre y la madre han sido superiores al 99 %.

Todos los valores de las probabilidades de exclusión individuales y conjuntas se presentan en la tabla 2.

Tabla 1. Número de alelos (K) y Contenido de Información Polimórfica (PIC) por locus en cada una de las razas

Table 1. Number of alleles (K) and Polymorphic Information Content per locus in each goat breed

Microsatélite	CMO		CBA		CNS		CBC		CPI		CAG	
	k	PIC										
BMS356	4	0,668	5	0,699	6	0,726	6	0,676	4	0,680	6	0,622
BMS975	7	0,624	5	0,539	6	0,647	5	0,479	8	0,700	10	0,689
HMH1R	9	0,674	9	0,629	8	0,645	10	0,751	8	0,673	11	0,767
ILSTS011	8	0,596	6	0,591	6	0,541	6	0,612	7	0,691	7	0,711
INRA026	9	0,658	8	0,840	9	0,805	10	0,840	11	0,811	8	0,750
MCM527	6	0,680	7	0,701	6	0,615	7	0,723	7	0,705	11	0,837
TGLA53	3	0,381	6	0,558	8	0,477	10	0,579	6	0,429	8	0,422
CSRM60	6	0,745	7	0,733	9	0,776	7	0,815	6	0,715	8	0,579
CSSRM66	12	0,810	7	0,775	9	0,732	14	0,880	14	0,844	13	0,875

Tabla 2. Probabilidad de exclusión a priori cuando se conoce un parental (PE_A) y cuando se conocen ambos (PE_B) y probabilidades de exclusión conjuntas (PE_C) para cada locus en cada una de las razas estudiadas

Table 2. Exclusion probability when a parent is unknown (PE_A) and when both parents are known (PE_B) and combined probabilities of exclusion (PE_C) for each locus in each breed

Microsatélite	CMO		CBA		CNS		CBC		CPI		CAG	
	PE_A	PE_B										
BMS356	0,295	0,467	0,328	0,503	0,365	0,543	0,308	0,481	0,306	0,479	0,260	0,433
BMS975	0,268	0,433	0,195	0,346	0,283	0,452	0,144	0,304	0,342	0,526	0,332	0,515
HMH1R	0,316	0,500	0,270	0,448	0,283	0,457	0,411	0,589	0,314	0,489	0,433	0,611
ILSTS011	0,236	0,416	0,239	0,397	0,194	0,354	0,249	0,423	0,330	0,508	0,356	0,537
INRA026	0,299	0,490	0,546	0,710	0,492	0,664	0,551	0,713	0,503	0,672	0,405	0,584
MCM527	0,314	0,488	0,341	0,519	0,254	0,425	0,371	0,551	0,347	0,530	0,547	0,709
TGLA53	0,099	0,211	0,202	0,371	0,143	0,316	0,222	0,412	0,112	0,273	0,109	0,271
CSRM60	0,389	0,568	0,384	0,565	0,441	0,618	0,500	0,671	0,354	0,531	0,222	0,397
CSSRM66	0,503	0,673	0,433	0,611	0,380	0,558	0,638	0,779	0,568	0,725	0,628	0,772
PE_C	0,964	0,997	0,975	0,998	0,970	0,998	0,989	0,999	0,983	0,999	0,987	0,999

Discusión

El presente estudio describe la utilidad de nueve marcadores microsatélites para la utilización en los controles de filiación de seis razas de cabras españolas de aptitud cárnica con la finalidad de asegurar la veracidad de los registros incluidos en los correspondientes Libros Genealógicos. Para ello es de suma importancia el cálculo de la probabilidad de exclusión en cada una de las diferentes razas (Marklund et al., 1994).

Una probabilidad de exclusión conjunta del 99 % es estadísticamente potente pero para poder alcanzarla, sobre todo cuando sólo se conoce uno de los progenitores, se requiere un mayor número de marcadores. Hemos calculado las probabilidades de exclusión para dos situaciones comunes en los controles de filiación de las razas caprinas de aptitud cárnica y hemos obtenido unos valores superiores para aquellos casos en los que se conocían los dos progenitores que para los casos en los que solo se conocía un parental en todas las razas analizadas. En otros trabajos se ha evaluado la utilidad de marca-

dores microsatélites para la realización de los controles de filiación en otras razas caprinas (Luikart et al., 1999), ovinas (Tomasco et al., 2002) y equinas (Marklund et al., 1994; Luis et al., 2002; Binns et al., 1995). Las probabilidades de exclusión actúan, sin embargo, sólo como referencia para orientarnos acerca del poder de las pruebas de filiación bajo situaciones dadas de progenitores candidatos y disponibilidad de muestras. La prueba será menos fiable o poderosa si los padres candidatos están emparentados o si estamos ante una situación en la que el padre no se conoce. A pesar de todo, estos nueve marcadores son útiles para verificar un padre imputado o excluirlos a todos los falsamente imputados con una probabilidad alta. Incluso en la mayoría de las situaciones más usuales, en las que sólo hay un pequeño número de machos candidatos y en algunas ocasiones estos machos candidatos están emparentados entre ellos.

Por lo tanto, los nueve microsatélites permitirán un rápido y eficiente screening, espe-

cialmente por poder ser amplificados en reacciones de PCR múltiple y subsecuentemente se pueden someter a electroforesis juntos en un secuenciador automático. La asignación de la filiación de los cabritos usando microsatélites es una herramienta útil para el manejo de los Libros Genealógicos, esencial para la conservación de estas razas y para futuros planes de mejora genética que se puedan plantear.

En este trabajo hemos dado sugerencias en cuanto a al número y cuáles son los marcadores a usar. Ahora habría que sopesar el poder de exclusión con el esfuerzo y el coste económico requerido para su utilización de forma rutinaria, aspecto muy importante en estas razas.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto de investigación "Caracterización y evaluación de razas caprinas autóctonas españolas de orientación cárnica" (RZ01-010-C3), INIA, Ministerio de Educación y Ciencia.

Bibliografía

- Azor PJ, Molina A, Barajas F, Arranz JJ, Valera M, Rodero A, Miguélez JJ, 2004. Estimación del nivel de diferenciación genética de la raza merina mediante ADN Microsatélite. *FEAGAS*. Vol. 25, pp: 92-98.
- Azor PJ, Monteagudo LV, Luque M, Tejedor MT, Rodero E, Sierra I, Herrera M, Rodero A, Arruga MV, 2005. Phylogenetic relationships among Spanish goats breeds. *Animal Genetics* 36 (5), 423-425.
- Binns MM, Holmes NG, Holliman A, Scott AM, 1995. Identification of polymorphic microsatellite loci in the horse and their use in Thoroughbred parentage testing. *Br. Vet. J.* 151: 9-15.
- Botstein D, White RL, Skolnick MH, Davies RW, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32, 314-31.
- Bragança P, Arranz JJ, San Primitivo F, 1999. Diseño de un sistema "Multiplex" para el control de parentesco en rumiantes domésticos. VIII Jornadas sobre Producción Animal. AIDA. Zaragoza. España.
- Chakravarti A, Li CC, 1983. The effect of linkage on paternity calculations. In *Inclusion Probabilities in Parentage Testing*, ed. RH Walker. *American Association of Blood Banks: Arlington, Virginia*.
- Cheng HH, LB Crittenden, 1994. Microsatellite markers for genetic mapping in the chicken. *Poultry Science* 73: 539-546.
- Double MC, Cockburn A, Barry SC, Smouse PE, 1997. Exclusion probabilities for single-locus paternity analysis when related males compete for matings. *Mol. Ecol.* 6: 1155-1166.
- Gutiérrez JP, Royo LJ, Álvarez I, Goyache F, 2005. MolKin v2.0: a computer program for genetic analysis of populations using molecular coancestry information. *J. Hered.* 96: 718-721.
- Jamieson A, Taylor SCS, 1997. Comparisons of three probability formulae for parentage exclusion. *Animal Genetics* 28: 397-400.
- Jones NH, ML Clabby, DP Dialynas, HJS Huang, LA Herzenberg, JL Strominger, 1986. Isolation of complementary DNA clones encoding the human lymphocyte glycoprotein T1/Leu-1. *Nature* 323: 346-349.
- Luikart G, Biju-Duval MP, Ertugrul O, Zagdsuren J, Mandet C, Taberlet P, 1999. Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes of parentage testing in goats (*Capra hircus*). *Animal Genetics*. 30, 431-438.
- Luis C, Cothran EG, Oom MM, 2002. Microsatellites in portuguese autochthonous horse breed: usefulness for parentage testing. *Genet Molec Biol* 25(2): 131-134.

- Marklund S, Ellegren H, Eriksson S, Sandberg K, Andersson L, 1994. Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic microsatellites. *Animal Genetics* 25: 19-23.
- Marshall TC, Slate J, Kruuk L, Pemberton JM, 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7(5): 639-655.
- Miller SA, DD Dikes, HF Polesky, 1988. A simple salting procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16: 215.
- Tomasco I, Wlasiuk G, Lessa EP, 2002. Evaluation of polymorphism in ten microsatellite loci in Uruguayan sheep flocks. *Genet. Mol. Biol.*, vol.25, no.1, p. 37-41.
- Valle J, Azor PJ, Valera M, Arranz JJ, Molina A, 2004. Análisis de la variabilidad genética de la raza montesina mediante marcadores de ADN. *FEAGAS*. Vol. 25, pp: 99-105.
- Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R, 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*. 10 (4): 506-13.
- (Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Una nota sobre WinLoki: una interfaz de usuario para Loki

S. Iglesias*, J.J. Arranz**, I. Álvarez*, I. Fernández*, L.J. Royo*, F. Goyache*

*Área de Genética y reproducción Animal. SERIDA-Somió, C/ Camino de los Claveles 604, 33203-Gijón (Asturias); e-mail: samuel_ig@yahoo.es.

**Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071-León.

Resumen

WinLoki es una interfaz gráfica en entorno Microsoft Windows® para el programa Loki, originalmente desarrollado por Simon Heath bajo licencia libre. Este programa utiliza metodologías bayesianas para localización de QTL (Quantitative Trait Loci) estimando su posición, efectos y número. WinLoki hereda todas las características de Loki e incorpora otras utilidades enfocadas a facilitar su uso en entorno Microsoft Windows® con el objetivo de ayudar a los investigadores que no dispongan de amplios conocimientos informáticos o de programación y estén acostumbrados a utilizar Windows como sistema operativo. El código fuente del programa WinLoki, los archivos ejecutables y las guías de usuario en versiones española e inglesa, se encuentran disponibles y para libre acceso en la página de Internet <http://winloki.sourceforge.net/>. Como ejemplo del funcionamiento de WinLoki se analizó un pedigrí de medio hermanas de padre, de ganado Frisón Español para los caracteres Colocación de Pezones Anteriores y Colocación de Pezones Posteriores en el cromosoma 6 bovino.

Palabras clave: QTL, Análisis bayesiano, Interfaz, Cromosoma 6 bovino

Summary

A note on WinLoki: a user's interface for Loki

WinLoki is a graphical interface under Microsoft Windows® for the Simon Heath's program Loki. This program uses Bayesian methodologies to carry out QTL (Quantitative Trait Loci) mapping analyses giving estimates of the position, effect and number of QTLs involved. WinLoki shares with Loki its nice characteristics and has some useful utilities in a Windows® environment. The aim of WinLoki is to help researchers to the use of Loki without needing significant informatics background. The source code, executable files and user's guides (in Spanish and English versions) are freely available at <http://winloki.sourceforge.net/>. The performance of WinLoki is illustrated via the analysis of a half-daughter pedigree of Spanish Friesian cattle on bovine chromosome 6 for the traits Fore Teat Placement and Rear Teat Placement.

Key words: QTL, Bayesian analysis, Interface, Bovine chromosome 6

Introducción

Desde el final de la década de los 80 y con la generalización del uso de marcadores moleculares polimórficos de tipo microsatélite la detección de Quantitative Trait Loci (QTL) se

ha convertido en una actividad de importancia en la mejora ganadera (Arranz, 2000). Las metodologías estadísticas para detección de QTL se han basado hasta hace poco en mínimos cuadrados y máxima verosimilitud (Weller, 2001), en parte porque

podían aplicarse mediante programas estadísticos de uso general como SAS® (SAS Institute Inc, Cary, NC). A pesar de su mayor flexibilidad, el uso de metodologías Bayesianas para detección de QTL está menos generalizado ya que el número de programas de libre disposición que realizan este tipo de análisis es limitado (Heath, 2002; Wang et al., 2005). Uno de estos programas es Loki (Heath, 2002), que es una herramienta completa de uso creciente (de Koning et al., 2003; Schnabel et al., 2005; Szyda et al., 2005). Loki tiene como ventaja añadida su desarrollo bajo una licencia libre (BSD modificada), permitiendo la modificación de su código para adecuarlo a las necesidades específicas de los usuarios. Sin embargo, Loki no dispone de una interfaz de usuario que ayude a realizar las complejas operaciones de preparación de datos y ejecución del programa, lo que limita su utilización por investigadores con escasos conocimientos de informática. El objetivo de esta nota es describir un interfaz de usuario (denominada WinLoki v0.1 Beta) desarrollada para Loki en entorno Microsoft Windows® y puesta a libre disposición de la comunidad investigadora para facilitar la utilización de Loki.

Materiales y métodos

Breve descripción de Loki

Loki (Heath, 2002) es una serie de programas escritos en lenguaje C que aplican los métodos descritos por Heath (1997) para análisis de segregación y ligamiento de caracteres cuantitativos mediante la utilización de técnicas de Monte Carlo basadas en cadenas de Markov (MCMC). Loki no precisa que se le especifiquen *a priori* el modelo de penetrancia ni el número de QTL que afectan al carácter analizado. Loki no ofrece resultados en forma de "LOD scores" como

los programas tradicionales de análisis de QTL sino que estima la probabilidad posterior de que, al menos, un QTL que afecte al carácter analizado se encuentre en una región cromosómica dada. Otra posibilidad de utilización de Loki es la estimación de las probabilidades de identidad por descendencia (IBD) para todos los animales incluidos en el pedigrí analizado. Aunque Loki no utiliza estos valores IBD en las versiones actuales, esta capacidad de Loki se puede utilizar para obtener matrices de parentesco para su uso en otros programas (Visscher et al., 1999).

Loki incluye dos programas fundamentales: prep.exe y loki.exe que, respectivamente, sirven para configurar los datos de entrada y realizar los análisis MCMC. Asimismo, incluye un reducido número de pequeños programas de utilidad para analizar la salida de Loki.

WinLoki

WinLoki es una interfaz gráfica para el programa Loki (Heath, 2002; disponible en la dirección de Internet <http://loki.homeunix.net/>) desarrollada para la utilización de ese programa en el entorno operativo Microsoft Windows 9x/2000/XP® lo que no resulta posible con el programa original. WinLoki está disponible para su descarga y utilización libres en la dirección de Internet <http://winloki.sourceforge.net>. WinLoki hereda todas las características de Loki, (excepto la inclusión por medio de la interfaz de los campos y comandos para la estimación de las probabilidades IBD) e incorpora otras utilidades enfocadas a facilitar su uso en entornos Microsoft Windows®, como son:

- Interfaz sencilla y fácil de utilizar.
- Instalación sencilla

- Entorno sencillo para la creación y edición de los ficheros de configuración y de parámetros para la ejecución de Loki.
- Posibilidad de editar los ficheros de configuración de los datos y de los parámetros de ejecución de Loki con el editor de texto que el usuario prefiera (Microsoft WordPad® por defecto).
- Crear una imagen con la gráfica del resultado del análisis en formato gif.

El proceso de instalación de Loki se ha simplificado al máximo. El propio programa guía al usuario en la instalación y, durante la misma, se instalan, además de WinLoki los programas Loki, GnuPlot y distintas librerías necesarias para su correcto funcionamiento. Para poder ejecutar los pequeños programas necesarios para analizar la salida de Loki y para crear una imagen de salida en formato .gif, se debe instalar el programa Perl (disponible en la página <http://winloki.sourceforge.net>).

La ejecución del programa se inicia a través de una pantalla principal (figura 1) que incluye tres opciones en el menú superior: *Archivo*, para crear y editar los ficheros necesarios para la ejecución de Loki; *Herramientas*, para seleccionar un editor de texto, ver la imagen .gif con el visor de imágenes por defecto del sistema operativo y configurar la ruta de los programas necesarios por Loki; y *Ayuda*, que proporciona información suplementaria sobre el programa y el autor. En la parte central de la pantalla principal aparecen cuatro botones: *Preparar los datos*, que sirve para indicar a Loki, el formato de los datos de entrada y prepararlos para su uso, abriendo una ventana MSDOS en segundo plano, que ejecuta el programa prep.exe; *Ejecutar Loki*, que abre una ventana en segundo plano que ejecuta loki.exe; *Gráfica del resultado* que permite crear una imagen (en formato gif) que resume los resultados obtenidos por Loki; y *Informe del Resultado*, que permite leer la salida de WinLoki como una tabla.

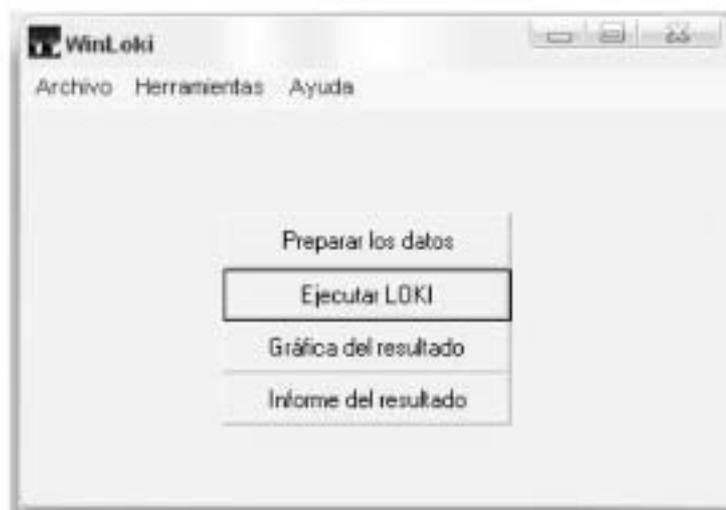


Figura 1. Pantalla principal de WinLoki.
Figure 1. Main screen of WinLoki.

Los ficheros de configuración pueden crearse desde el menú Archivo o editarse uno previamente creado mediante la opción "Archivo -->Abrir fichero de configuración". Los campos de Loki se pueden añadir desde la opción del menú "Añadir campos". Por otra parte, el usuario puede crear y editar el fichero de parámetros necesario para la ejecución de Loki mediante la opción del menú "Archivo-->Crear fichero de parámetros" o, en su caso, "Archivo -->Abrir fichero de configuración" para, posteriormente, añadir éstos desde la opción del menú "Añadir campos" (figura 2).

Tanto los comandos como los campos previstos en WinLoki siguen la estructura de Loki, resultando recomendable la lectura de la ayuda del programa (disponible en http://loki.homeunix.net/loki_doc/) aunque WinLoki proporciona una información básica pulsando sobre el menú de Ayuda.

Nótese que siempre existe la posibilidad de editar "a mano" el fichero de configuración si se quiere incluir algún campo (DO WHILE, Environment Variables o IBD Sharing analyses) o comando (ESTIMATE IBD) de Loki no incluido en WinLoki.

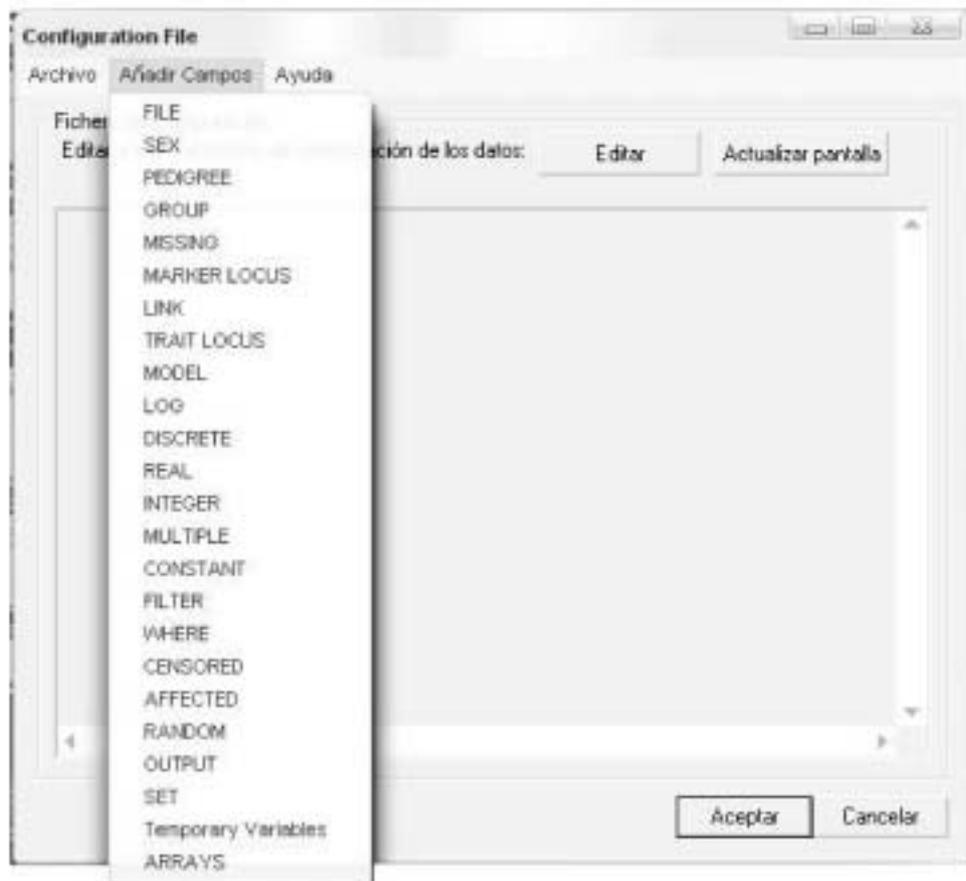


Figura 2. Pantalla de creación y edición del fichero de configuración.
 Figure 2. Screen of creation and edition of the configuration file.

Ejemplo

Como ejemplo del funcionamiento de WinLoki se ha analizado un pedigrí de medio hermanas de padre, de ganado Frisón Español, controlado por la cooperativa Asturiana de Control Lechero (ASCOL) ya presentado previamente para caracteres de producción de leche (Álvarez *et al.*, 2003). El pedigrí lo integran familias de hijas de 7 sementales frisones, con 164-189 hijas por semental y se ha genotipado con 10 marcadores microsatélites localizados en el cromosoma 6 bovino, amplificados en 3 reacciones diferentes: multiplex FAM (BM4311, BM415, BM4528); multiplex TET (BM143, BM1329, ILSTS93, CSN3) y multiplex HEX (TGLA37, BM4621, ILSTS97). La

amplificación por PCR y el genotipado se realizó según lo descrito por Álvarez *et al.* (2003). Como valores fenotípicos se han empleado los méritos genéticos de los animales para los caracteres de tipo Colocación de Pezones Anteriores (CPA) y Colocación e Pezones Posteriores (CPP) obtenidos mediante las evaluaciones genéticas oficiales de CONAFE. Sobre la información aportada por los 10 microsatélites considerados, se elabora un mapa de ligamiento adaptado a la población estudiada utilizando el programa CRIMAP (Lander y Green, 1987), que aplica la función de Kosambi para calcular, a partir de las frecuencias de recombinación, la distancia en centiMorgan (cM) existente entre los marcadores.

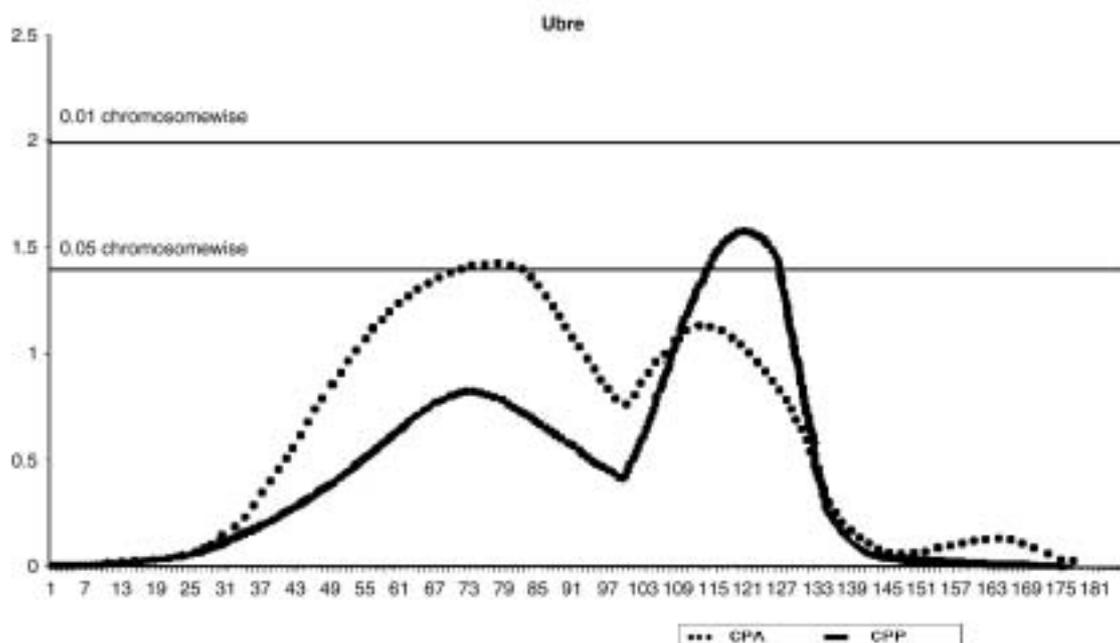


Figura 3. Análisis bayesiano para localización de QTLs en el cromosoma 6 bovino para los caracteres Colocación de Pezones Anteriores (CPA) y Colocación de Pezones Posteriores (CPP).

Figure 3. Bayesian analysis performed for QTL mapping on bovine chromosome 6 for the traits Fore Teat Placement (CPA) and Rear Teat Placement (CPP).

Resultados y discusión

Se realizó un análisis preliminar de los caracteres CPA y CPP mediante la metodología de análisis de regresión descrita por Knott et al. (1996) en cada cM del cromosoma 6 bovino, en la forma descrita por Díez-Tascón et al. (2001). Los resultados obtenidos se muestran en la figura 3. Parece detectarse un QTL para CPA ($P = 0,037$) entre los 77 y 78 cM y otro para CPP ($P = 0,029$) en posición 129 cM. Sin embargo, la imagen obtenida permitiría pensar en que para cada uno de los caracteres analizados pudiera existir otro QTL al umbral, sugerente, de 10%. Pudiera darse la circunstancia de que se tratara de un mismo QTL con efecto pleiotrópico para los dos caracteres analizados o bien que en esta región genómica existen dos QTL con cierto grado de ligamiento que pudieran afectar en alguna medida tanto a CPA como a CPP.

Para resolver la cuestión se planteó un análisis con WinLoki (con 1000000 iteraciones) testando la presencia de dos QTL en el cromosoma 6 bovino para cada uno de los

caracteres analizados. Los resultados se muestran en la figura 4. Para ambos caracteres se encuentra un solo QTL que se localizarían a 40,5 cM (CPA) y 152,5 cM (CPP). En todo caso parece posible descartar la existencia de QTLs en el cromosoma 6 bovino con efecto pleiotrópico para CPA y CPP.

Se espera que WinLoki pueda convertirse en una herramienta útil para los investigadores que quieran utilizar Loki y tengan como entorno de trabajo el sistema operativo Microsoft Windows®. Este programa se publica bajo la misma licencia que Loki, es decir, la licencia BSD modificada, lo que permite su libre distribución, ejecución y modificación por parte del usuario. El código fuente se encuentra disponible en la página de WinLoki (<http://winloki.sourceforge.net>) en la sección de Descarga. Siendo software libre, permite ejecutar, modificar y distribuir este programa de una forma totalmente legal, ayudando a personalizarlo para necesidades muy concretas. WinLoki es un proyecto abierto a cualquier colaboración de desarrollo del programa.

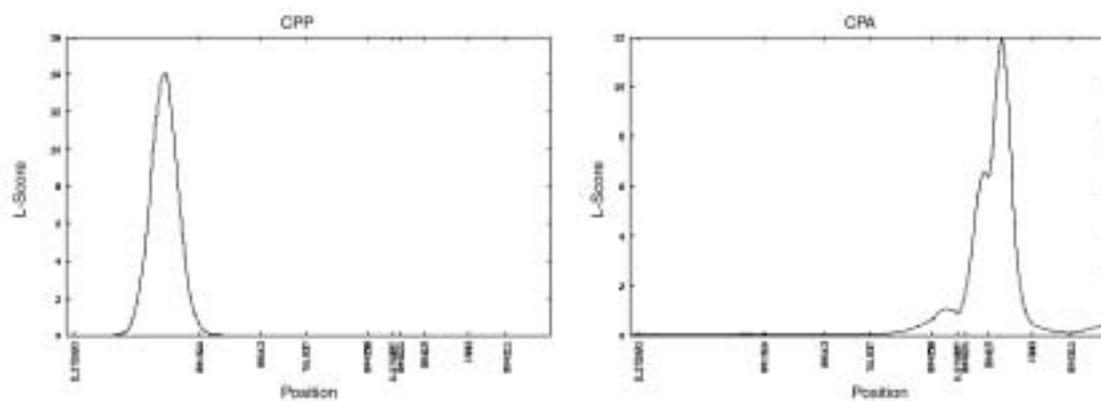


Figura 4. Análisis bayesiano para localización de QTLs en el cromosoma 6 bovino para los caracteres Colocación de Pezones Anteriores (CPA) y Colocación de Pezones Posteriores (CPP).

Figure 4. Bayesian analysis performed for QTL mapping on bovine chromosome 6 for the traits Fore Teat Placement (CPA) and Rear Teat Placement (CPP).

Agradecimientos

WinLoki se ha desarrollado durante una estancia de Samuel Iglesias Gonsálvez en el Área de Genética y Reproducción Animal del SERIDA amparada en un Convenio de Colaboración suscrito entre la Universidad de Oviedo (Escuela de Ingenieros Técnicos de Telecomunicaciones) y el SERIDA. Los autores agradecen a Simon Heath su colaboración durante el desarrollo de WinLoki. Samuel Iglesias agradece a los usuarios de ACTEON (<http://www.dcam.upv.es/acteon>) las sugerencias que han permitido mejorar la versión inicial de WinLoki.

Bibliografía

- Álvarez I, Arranz JJ, Fernández I, Royo LJ, Goyache F, 2003. Resultados preliminares de un estudio de QTL en el cromosoma 6 bovino para caracteres de producción lechera en una población frisona asturiana. ITEA, 24 Vol Extra II: 423-425.
- Arranz JJ, 2000. Utilización de *genome scan* para la detección de regiones cromosómicas que expliquen parte de la varianza aditiva y el posterior de estudio de genes candidatos. ITEA 96: 173-186.
- de Koning DJ, Pong-Wong R, Varona L, Evans GJ, Giuffra E, Sanchez A, Plastow G, Noguera JL, Andersson, L, Haley CS, 2003. Full pedigree quantitative trait locus analysis in commercial pigs using variance components. J. Anim Sci. 81: 2155-2163.
- Díez-Tascón C, Bayón Y, Arranz JJ, de la Fuente F, San Primitivo F, 2001. Mapping quantitative trait loci for milk production traits on ovine chromosome 6. J. Dairy Res. 68: 389-397
- Heath SC, 1997. Markov Chain Monte Carlo segregation and linkage analysis for oligogenic models. Am. J. Hum. Genet. 61: 748-760.
- Heath SC, 2002. Loki 2.4.5. A package for multi-point linkage analysis on large pedigrees using reversible jump Markov Chain Monte Carlo. Centre National de Génotypage, Evry, France.
- Knott SA, Elsen JM, Haley CS, 1996. Methods for multiple-marker mapping of quantitative trait loci in half-sib populations. Theor. Appl. Genet. 93: 71-80.
- Lander ES, Green P, 1987. Construction of Multi-locus Genetic Linkage Maps in Humans. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84: 2363-2367.
- Schnabel RD, Sonstegard TS, Taylor JF, Ashwell MS, 2005. Whole-genome scan to detect QTL for milk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families. Anim. Genet. 36: 408-16.
- Szyda J, Liu Z, Reinhardt F, Reents R, 2005. Estimation of Quantitative Trait Loci Parameters for Milk Production Traits in German Holstein Dairy Cattle Population. J. Dairy Sci. 88: 356-367.
- Visscher PM, Haley CS, Heath SC, Muir WJ, Blackwood DHR, 1999. Detecting QTL for uni- and bipolar disorder using variance component method. Psych. Genet. 9: 75-84.
- Wang S, Basten CJ, Zeng ZB, 2005. Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. (<http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>).
- Weller JI, 2001. Quantitative Trait Loci analysis in animals. CABI Publishing, New Cork, EE.UU.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Evaluación de los sistemas *Visible Implant Elastomer* (VIE) y *Passive Integrated Transponder* (PIT) para marcar alevines de bocinegro (*Pagrus pagrus*): efectos sobre el crecimiento, la mortalidad y la tasa de retención

M. Soula*, A. Navarro*, M.J. Zamorano*, J. Roo**, F. Real***, R. Ginés*, C.M. Hernández-Cruz*, J.M. Afonso*,****

* División de Acuicultura y Genética Marina. Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña s/n, 35416 – Arucas.

** Departamento de Cultivos Marinos. Instituto Canario de Ciencias Marinas, 35200, Telde.

*** División de Ictiopatología. Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña s/n, 35416 – Arucas.

**** Correspondencia: Tel., 928459735. Fax., 928451142. Email: jafonso@dpat.ulpgc.es. Juan Manuel Afonso López. División de Acuicultura y Genética Marina. Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Trasmontaña s/n. 35416 – Arucas. Las Palmas (España).

Resumen

En este estudio, fueron evaluados los sistemas de marcaje *Visible Implant Elastomer* (V.I.E.; Northwest Marine Technology Inc.) y *Passive Integrated Transponder* (P.I.T.; EiD Ibérica SA - TROVAN) en bocinegro (*Pagrus pagrus*), como métodos de marcaje para trazar la genealogía durante su cultivo dentro de un programa de selección. Para el marcaje VIE, fueron comprobadas las clases de peso, 0,5 y 2 g, no encontrándose efecto de la marca sobre el crecimiento. La marca se fragmentó a lo largo de los experimentos ($3,06 \pm 0,17$ fragmentos) y mostró una tasa de retención máxima. A los 0,5 g, los peces marcados mostraron una mortalidad significativamente mayor que los peces control, 21,7% ($P < 0,05$). A los 2 g de peso, no hubo efecto de la marca sobre la mortalidad. La visibilidad por color decreció en el siguiente orden; rojo, rosa, verde, naranja, blanco y azul. Para el marcaje con PIT, se evaluaron las clases de peso de 4 y 10 g. Ambas clases mostraron una alta tasa de retención, 99%, y no hubo efecto de la marca sobre el crecimiento. Se detectó un efecto significativo del PIT sobre la mortalidad de los peces, 24,4% a los 4 g y 27% a los 10 g ($P < 0,05$). Dentro de esta última clase, no hubo diferencia significativa en mortalidad entre peces marcados y no marcados con pesos > 10 g.

Palabras clave: VIE, PIT, bocinegro, *Pagrus pagrus*, crecimiento, mortalidad.

Summary

Evaluation of *Visible Implant Elastomer* (VIE) and *Passive Integrated Transponder* (PIT) systems to tag fingerling of red porgy (*Pagrus pagrus*): effects on growth, mortality and tag loss

In this study, the use of *Visible Implant Elastomer* (V.I.E.; Northwest Marine Technology Inc.) and *Passive Integrated Transponder* (P.I.T.; EiD Ibérica SA - TROVAN) tags in red porgy (*Pagrus pagrus*) were evaluated, as tag methods to know the genealogy under culture. For VIE tags, 0.5 and 2 g weight classes were tested, without any effect of the tag on growth. Tag was fragmented along experiments (3.06 ± 0.17 fragments) but showed maximum retention. A significant mortality rate was detected on 0.5 g tagged fish, being 21.7% higher in tagged fish ($P < 0.05$). At 2 g weight, there was not effect of the tag on mortality and visibility per colour decreased in the following order; red, rose, green,

orange, yellow, white and blue. For PIT tags, 4 and 10 g weight classes were evaluated and showed high tag retention, 99%. In both weight classes, PIT tags did not show effect on fish growth while tags produced a significant effect on mortality, 24.4% at 4 g and 27% at 10 g ($P < 0,05$). Within this last weight class, there was not difference in mortality between tagged and untagged fish with weight > 10 g.

Key words: VIE, PIT, red porgy, *Pagrus pagrus*, growth, mortality

Introducción

El bocinegro es un espárido que se encuentra dentro de las nuevas especies explotadas en la acuicultura europea, cuyo cultivo se está desarrollando en el área mediterránea. Concretamente, en el Instituto Canario de Ciencias Marinas, el Grupo de Investigación en Acuicultura está produciendo un stock de reproductores con el fin de desarrollar un programa de mejora genética para esta especie (AGL2003-09131; PI0422004/119; BOCINEGRO/2006). Sin embargo, la implantación de un programa de selección requiere de información familiar a través de la identificación de los grupos familiares y de los peces individualmente.

El sistema de marcaje *Visible Implant Elastomer* (VIE; North-west Marine Technology Inc.), es un marcador interno subcutáneo que ha sido usado como técnica de identificación de grupos importantes de peces teniendo la ventaja de ser rápido, de bajo coste económico y fácil de usar en peces de tamaño pequeño (Frederick, 1997; Bailey et al., 1998; Olsen y Vollestad, 2001; Goldsmith et al., 2003). Además, tiene poco o ningún efecto sobre el crecimiento y la supervivencia de los peces (Dewey y Zigler, 1996). A pesar de que ha sido usado con éxito en distintas especies de peces (Bonneau et al., 1995; Dewey y Zigler, 1996; Bailey et al., 1998; Malone et al., 1999; Hughes et al., 2000; Brennan et al., 2001; Olsen y Voellestad, 2001; Bruyndoncx et al., 2002; Griffiths, 2002), incluyendo espáridos (Willis y Babcock, 1998; Willis et al., 2001; Astorga et al.,

2005), su utilidad viene determinada por factores como la talla, el color de la piel o la capacidad de soportar un manejo intenso, debiendo ser puesto a punto para cada especie.

El *Passive Integrated Transponder* (PIT; EID Ibérica SA - TROVAN) es un sistema de marcaje interno que permite el reconocimiento individual de los peces, que ha sido utilizado con éxito en varias especies (Prentice et al., 1989; Ingram, 1994; Baras et al., 1999; Baras et al., 2000; Mahapatra et al., 2001; Bruyndoncx et al., 2002; Gries y Letcher, 2002; Dare, 2003). En espáridos, sólo existen estudios en la dorada australiana (Quartararo y Bell, 1992) y la dorada europea (Navarro et al., 2004). Se trata de un sistema cuyo uso requiere de una evaluación previa en cada especie de interés debido a sus diferentes grados de aceptación y condicionantes biológicos.

En este estudio se han puesto a punto para el bocinegro los sistemas de marcaje VIE y PIT valorando el peso más adecuado para el marcaje, los efectos de la marca sobre el crecimiento y la mortalidad de los peces y la tasa de retención de la misma.

Materiales y métodos

Todos los experimentos fueron realizados en el Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM).

1. Visible Implant Elastomer (VIE; North-West Marine Technology Inc.)

Este sistema se evaluó en dos clases de talla, 0,5 g (experimento-1) y 2 g (experimento-2). El peso y longitud media del experimento-1 fue de $0,56 \pm 0,02$ g y $2,96 \pm 0,02$ cm, respectivamente, mientras que en el experimento-2 fueron $2,18 \pm 0,07$ g y $4,45 \pm 0,06$ cm. Se utilizaron 360 peces en cada experimento, los cuales fueron repartidos al azar en tres tanques de 500 litros. Una vez que se aclimataron, la mitad de los peces de cada tanque, fueron marcados horizontalmente, siguiendo las recomendaciones de Astorga et al. (2005), con 7 colores de VIE; rojo, naranja, verde y blanco en el lomo anterior del lado izquierdo y rosa, amarillo y azul en el lomo anterior del lado derecho. Los peces no marcados se usaron como control. Se midió el peso y la longitud de los peces al inicio y al final de ambos experimentos, los cuales tuvieron una duración de 15 días para el experimento-1 y 30 días para el experimento-2. La tasa de alimentación diaria durante el cultivo fue el 4% de la biomasa total repartida en tres tomas, con pienso comercial (Proaqua, Palencia). Las condiciones de temperatura, salinidad y oxígeno del agua fueron $22,3 \pm 9,4$ °C, 37‰ y $6,4 \pm 0,23$ ppm, respectivamente. La renovación del agua durante el tiempo de experimentación fue de 8 litros por minuto.

En los peces marcados con VIE se midió la longitud de la marca al inicio y final de cada experimento, además del número de fragmentos y el espacio entre estos al final de los mismos, con el fin de obtener una tasa de retención cuantitativa. Se valoró la visibilidad de la marca para cada uno de los colores dentro del agua, tanto con luz azul como luz natural, y también fuera del agua con luz natural, sólo con los peces del experimento-2. Para ello se realizó una encuesta de valoración de la visibilidad comparativa

de cada color en cada una de las situaciones con una escala del 1 al 7, utilizando 10 personas sin experiencia previa con el uso del sistema VIE.

2. Passive Integrated Transponder (PIT; EiD Ibérica SA - TROVAN)

Se llevaron a cabo dos experimentos a distintos pesos; 4 g (experimento-3) y 10 g (experimento-4). En el experimento-3 se usaron 390 peces de $4,20 \pm 0,04$ g peso y de $5,67 \pm 0,02$ cm de longitud media, mientras que en el experimento-4 se usaron 300 de $10,7 \pm 0,14$ g de peso y $7,70 \pm 0,39$ cm de longitud media. En ambos casos, los peces se repartieron al azar en tres tanques de 500 litros. Después de un periodo de aclimatación, la mitad de los peces se marcaron con el sistema interno de marcaje PIT en la cavidad abdominal, tal y como se describe en Navarro et al. (2004). Los peces sin PIT, se usaron como control y se marcaron con VIE usando una combinación de colores y posición corporal para cada clase de peso (Experimento-3: ≤ 3 g rojo-cola, $3 < x \leq 4$ g rojo-lomo, $4 < x \leq 5$ g verde-lomo, > 5 g verde-cola; Experimento-4: ≤ 10 g verde-cola, > 10 g rojo-cola), con el fin de corregir la mortalidad de los peces marcados con PIT respecto a los control por clase de peso, teniendo en cuenta que el sistema de marcaje VIE no tuvo efecto en el crecimiento ni en la mortalidad del bocinegro a partir de los 2 g de peso (ver resultados VIE del presente estudio). Los peces de ambos experimentos se mantuvieron durante un periodo de 30 días con una tasa de alimentación del 4 % de la biomasa corporal a razón de 3 veces por día. El pienso utilizado fue de la empresa Skretting. Durante todo el experimento se controlaron los parámetros del cultivo de temperatura, $24,5 \pm 0,32$ °C, salinidad, un 37 ‰, y concentración de oxígeno, $6,20 \pm 0,43$ ppm. La renovación del agua fue de 1 litro por

minuto. Se realizaron muestreos a los días 0, 15 y 30 para el peso y la longitud.

3. Análisis de los datos

La tasa de crecimiento específica se calculó mediante la expresión:

$$\text{SGR (\%)} = (\text{Ln PF} - \text{Ln PI}) 100/\Delta T$$

donde PF, PI y ΔT son peso final, peso inicial y periodo de estudio respectivamente.

Las variables de peso, longitud, visualización y tasa de fragmentación de la marca, se analizaron mediante el siguiente modelo lineal general:

$$Y_{ij} = \mu + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

donde μ es la media de la población, β_j es el efecto fijo del tanque y ε_{ij} es el error residual de la muestra ij .

Se aplicó el siguiente modelo loglineal para el análisis de la mortalidad acumulada y la tasa de pérdida de la marca.

$$\ln f_{ij} = m + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij}$$

donde $\ln f_{ij}$ es la frecuencia esperada de la celda ij , μ es la media de los logaritmos de las frecuencias esperadas, α_i es el efecto de la categoría i -ésima del factor, β_j es el efecto de la categoría j -ésima del factor, $\alpha\beta_{ij}$ es el efecto debido a la interacción de la categoría i -ésima y la categoría j -ésima.

Resultados y discusión

Visible Implant Elastomer (VIE)

Tanto al inicio como al final de ambos experimentos (1 y 2), no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los peces marcados y control, ni para el peso ni la longitud. Al final del experimento-1 el peso y longitud media fue de $1,23 \pm 0,33$ g y

$3,80 \pm 0,03$ cm, respectivamente, mientras que dichos valores fueron $4,7 \pm 0,08$ g y $6,05 \pm 0,40$ cm para el experimento-2. El SGR promedio fue 5,2 %, en el experimento-1, y 2,58%, en el experimento-2.

Todos estos resultados muestran que el sistema de marcaje VIE no tiene efecto negativo sobre el crecimiento del bocinegro desde el peso mínimo de marcaje de 0,5 g, lo que concuerda con lo mencionado por Goldsmith et al. (2003) en *Gobiomorphus cotidianus* y *Perca fluviatilis* para los pesos medios de 1,5 y 5 g, respectivamente. En el espárido *Sparus auratus*, Astorga et al. (2005) obtuvieron un resultado similar con individuos de 7,5 g.

La mortalidad media acumulada fue del 47,5 % en el experimento-1 y del 4,6 % en el experimento-2. En el experimento-1, hubo diferencias estadísticas significativas entre los peces control (39 %) y los marcados (60,7 %) ($P < 0,05$). Por el contrario, en el experimento-2 no hubo diferencias entre ambos grupos de peces, siendo del 3,6 %, para el grupo control, y del 5,9 %, para grupo de peces marcados con VIE ($P > 0,05$). Bruyndoncx et al. (2002) en *Cottus gobio* obtuvieron una mortalidad similar a la descrita en este estudio para la clase de peso 0,5 g, pero a unos pesos de 6,6 y 8 g, posiblemente como consecuencia de una mayor sensibilidad de esas clases de peso al manejo al que fueron sometidos los peces durante el marcaje (captura, anestesiado, mediciones, inyección subcutánea y recuperación). Por otro lado, la alta supervivencia del bocinegro de la clase de peso 2 g, al sistema VIE, está en concordancia con la mayoría de los experimentos descritos por otros autores a un peso igual o superior al de éste estudio, donde una supervivencia entre 85 y 100 % es estimada como buena para el marcaje con el sistema VIE en otras especies (Farooqi y Morgan, 1996; Haines y Modde, 1996; Olsen

y Vollestad, 2001; Doupe et al., 2003; Goldsmith et al., 2003; Astorga et al., 2005).

En relación a la fragmentación de la marca, el número medio de fragmentos fue de $3,06 \pm 0,17$ y $2,07 \pm 0,12$ al final de los experimentos 1 y 2, respectivamente. Dichos valores son similares a los encontrados por Astorga et al. (2005), en dorada europea. La fragmentación media obtenida fue afectada significativamente por el color, ya que los colores blanco, azul, rojo y rosa tuvieron un rango de variación de entre 1–1,37 fragmentos, mientras que para el amarillo, verde y naranja fue de entre 2,90–3,58 fragmentos ($P < 0,05$).

La visibilidad entre los colores, fuera y dentro del agua, fue distinta siendo el rojo el más visible, con una puntuación media de $5,40 \pm 0,30$, seguido del rosa ($4,93 \pm 0,27$), el verde ($4,70 \pm 0,34$), el naranja ($4,50 \pm 0,29$), el amarillo ($3,63 \pm 0,27$), el blanco ($2,40 \pm 0,34$) y el azul ($2,26 \pm 0,29$). Estudios realizados en otras especies han revelado que también es el color rojo el más visible tanto fuera como dentro del agua, con o sin luz azul, para la trucha arco iris, la dorada australiana y la dorada europea (Hale y Gray, 1998; Willis y Babcock, 1998; Astorga et al., 2005). En el bocinegro parece que el color verde se ve mejor que el naranja, dentro del agua con y sin luz azul, al contrario de lo que ha mencionado Willis y Babcock, (1998) para dorada australiana, donde el color naranja tiene mejor visibilidad que el verde y el amarillo, tal vez debido a las diferencias en color de la piel de ambas especies.

Las tasas de retención cualitativa y cuantitativa fueron del 100% y 75%, respectivamente, para ambos experimentos, lo cual fue similar a las mencionadas por Jerry et al. (2001) para *Cherax destructor*, por Goldsmith et al. (2003) en *Perca fluviatilis*, para el mismo periodo de tiempo, por Olsen y Vollestad (2001) en *Salmo trutta* y por

Astorga et al. (2005) en *Sparus auratus*. Otros autores detectan tasas de retención inferiores debido a la posición de implantación de la marca (Haines y Modde, 1996) y a los tiempos de experimentación (Goldsmith et al., 2003; Brennan et al., 2005).

La visión global de todos los resultados de crecimiento, mortalidad, tasa de retención y visibilidad de los colores, pone de manifiesto que la mejor talla para marcar alevines de bocinegro con el sistema VIE es a partir de los 2 g de peso y que el mejor color es el rojo.

Passive Integrated Transponder

En ambos experimentos 3 y 4, no hubo diferencias estadísticas significativas en peso entre peces marcados con PIT y control, ni al inicio ni al final de sendos experimentos, ni tampoco dentro de cada clase de peso en cada uno de los experimentos ($P > 0,05$). Al final del experimento-3, los peces alcanzaron un peso y longitud media de $8,94 \pm 0,11$ g y $7,38 \pm 0,03$ cm, respectivamente, mientras que en el experimento-4 fueron de $17,9 \pm 0,38$ g y $9,54 \pm 0,07$ cm. Dentro de éste último, los pesos medios fueron de $8,61 \pm 0,14$ g, para la clase ≤ 10 g, y de $12,13 \pm 0,17$ g, para la clase de peso > 10 g.

Dichos resultados ponen de relieve que el sistema de marcaje PIT no tiene efecto negativo sobre el crecimiento del bocinegro, a partir de los 3 gramos de peso, e independientemente de la clase de peso. A pesar de ello, se detectaron diferencias en SGR entre peces marcados y controles, tanto en el experimento-3 (4 g) como en el experimento-4 (10 g), durante los 15 primeros días después del marcaje, lo que revela la existencia de un efecto compensatorio en el crecimiento entre las dos primeras semanas y el resto del periodo de cultivo. Esto estaría de acuerdo con el decremento acusado en

crecimiento que describieron Baras et al. (2000) en perca durante la primera semana después del marcaje, que acaba por ser recuperado en la segunda semana. En tilapia del Nilo, Baras et al. (1999) revelan la existencia de un SGR negativo durante los 3 primeros días después del marcaje que es posteriormente compensando. En dorada europea, Navarro et al. (2004) también encontraron un crecimiento compensatorio a los 3,4 g después del marcaje, algo que no sucedió con para las clases de peso de 4,5 y 6,3 g (Navarro et al., 2006).

La tasa de mortalidad total al final del experimento-3 fue estadísticamente superior para los peces marcados, 26,2 %, frente al control, 1,80 %, ($P < 0,05$). La mayor mortalidad se produjo en la primera semana posterior al marcaje y/o manipulación de los peces, y dentro de ésta fue máxima en las primeras 24 horas, ya que durante las tres semanas restantes del experimento sólo se produjo un 3,1%. La mortalidad también varió en función del peso de los peces, mostrando el porcentaje de mortalidad más alto los peces marcados con PIT pertenecientes a la clase 3-4 g (60,9 %) frente al resto de las clases ($P < 0,05$). En el experimento-4, la tasa de mortalidad total fue del 21,7 %, donde existió una diferencia estadística significativa entre los peces marcados con PIT (35 %) y control (8 %) ($P < 0,05$), si bien la mayoría de los peces muertos pertenecían a la clase de peso ≤ 10 g (52 % en los marcados con PIT y 9,4 % en los control). El que las mayores mortalidades del presente estudio se correspondiesen con las clases de peso menores concuerda con los resultados encontrados en tilapia del Nilo por Baras et al. (1999), donde el 90% de los peces menores a 3 g murieron justo después de la inyección del PIT. Del mismo modo, sucede en la perca, en la que los peces marcados con un peso medio de 5,1 g presentaron los mayores valores de mortalidad (Baras et al., 2000).

Sin embargo, la experiencia del marcador puede mejorar las tasas de supervivencia (Mahapatra et al., 2001) y por lo tanto permitir usar clases de peso inferiores a las descritas como adecuadas para marcas los peces con el sistema PIT (Navarro et al., 2006).

La tasa media de retención del PIT fue del 98,7 % para el experimento-3, sin diferencias entre marcados de las clases de de 3-4 y 4-5 g (96,7 % y 98,6 %, respectivamente) ($P > 0,05$), y del 99% para el experimento-4. Estos altos valores concuerdan con los resultados encontrados por otros autores en distintas especies (Prentice et al., 1989; Ingram, 1994; Baras et al., 1999, 2000; Dare, 2003). Además, en el presente estudio no se detectó asociación entre la tasa de retención y la clase de peso, lo cual está en concordancia con el valor del 100 % determinado por Bruyndoncx et al. (2002) en *Cottus gobio* para un rango de pesos similar, 4-15 g. Sin embargo, ello contrasta con los resultados descritos por Mahapatra et al. (2001) para carpa, donde los peces más pesados mostraron las menores tasas de retención (96 % en peces > 15 g frente al 100 % de peces entre 2-15 g). En espáridos, los únicos resultados son los descritos en *Sparus auratus* por Navarro et al. (2004, 2006), quienes encuentran un efecto estadístico significativo de la clase de peso sobre la tasa de retención del PIT (86 %, 98 % y 100% para los pesos medios de 3,4 g, 4,5 g y 6,3 g, respectivamente), y *Pagrus auratus* por Quartarato y Bell (1992), que estiman unas tasas de entre el 92 % y el 96 % para un peso medio de 59 g.

La cicatrización total de la herida causada por la introducción del PIT sucedió en un 70 % de los peces en el experimento-3, una vez transcurridos las dos primeras semanas, si bien al final del experimento todos los peces mostraron una cicatrización perfecta. Además, por clase de peso, fue mayor el grado de cicatrización cuanto más grande

era la clase de peso, para una misma edad. En el experimento-4, la cicatrización total de la herida fue obtenida en el 49,5 % de los peces durante las dos primeras semanas de experimentación, e igualmente al final del experimento todos los peces tuvieron una cicatrización completa. Estos resultados coinciden con lo mencionado para Baras et al. (2000), quienes estimaron el tiempo de cicatrización entre 12 y 16 días para la tilapia del Nilo a un peso de 6,5 g. Del mismo modo, en dorada europea, la cicatrización completa de la herida sucede entre los días 10 y 20 seguidos al marcaje (Navarro et al., 2004), todo lo cual concuerda con la fisiología de la cicatrización (Landolt, 1989).

Los resultados de los dos experimentos llevados a cabo para valorar el efecto del sistema PIT en el crecimiento, las tasas de mortalidad, retención y cicatrización de alevines de bocinegro muestran que esta especie posee una mayor sensibilidad al marcaje que la dorada, y que la clase de peso > 10 g es la más adecuada para marcar el bocinegro con el sistema de marcaje PIT.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado con los proyectos PI0422004/119 y AGL2003-09131.

Bibliografía

- Astorga N, Afonso JM, Zamorano M, Montero D, Oliva V, Fernández H, 2005. Evaluation of Visible Implant Elastomer tags for tagging juvenile gilthead seabream *Sparus auratus* L.; effects on growth, mortality, handling time and tag loss. *Aquaculture Research*. 36: 733-738.
- Bailey RE, Irvine JR, Dalziel FC, Nelson TC, 1998. Evaluations of visible implant fluorescent tags for marking coho salmon smolts. *North American Journal of Aquaculture*. 18: 191-196.
- Baras E, Westerloppe L, Melard C, Philippart JC, 1999. Evaluation of implantation procedures for PIT-tagging juvenile Nile Tilapia. *North American Journal of Aquaculture*. 61: 246-251.
- Baras E, Malbrouck C, Houbart M, Kestemont P, Mélard C, 2000. The effect of PIT tags on growth and physiology of age-0 cultured Eurasian perch *Perca fluviatilis* of variable size. *Aquaculture*. 185: 159-173.
- Bonneau JL, Thurow RF, Scarnecchia DL, 1995. Capture, marking and enumeration of juvenile bull trout and cutthroat trout in small, low conductivity streams. *North American Journal of Fisheries Management*. 15: 563-568.
- Brennan NP, Debruler R, Blankenship HL, Leber KM, 2001. Coded-wire tag and visible implant elastomer tag retention in juvenile red snapper *Lutjanus campechanus*. In: *Aquaculture-2001: Book of Abstracts* 143. JMParkerCo-liseum, Louisiana State University, Baton Rouge, LA, USA. 967-970.
- Brennan NP, Leber KM, Blankenship HL, Ransier JM, Debruler RJR, 2005. An Evaluation of Coded Wire and Elastomer Tag Performance in Juvenile Common Snook under Field and Laboratory Conditions. *North American Journal of Fisheries Management*. 25: 437-445.
- Bruyndoncx L, Knaepkens G, Meeus W, Bervoets L, Eens M, 2002. The evaluation of passive integrated transponder PIT tags and visible implant elastomer VIE marks as new marking techniques for the bullhead. *Journal of Fish Biology*. 60: 260-262.
- Dare MR, 2003. Mortality and Long-term Retention of Passive Integrated Transponder Tags by Spring Chinook Salmon. *North American Journal of Fisheries Management*. 23, 1015-1019.
- Dewey MR, Zigler SJ, 1996. An evaluation of fluorescent elastomer for marking bluegills in experimental studies. *The Progressive Fish-Culturist*. 58: 219-220.

- Doupe RG, Partridge GJ, Lymbery AJ, 2003. Visible implant fluorescent elastomer tags as pedigree markers for applied aquaculture: an evaluation using black bream *Acanthopagrus butcheri*. *Aquaculture Research*. 34: 681-683.
- Farooqi MA, Morgan CE, 1996. Elastomer visible implant EVI tag retention and the effect of tagging on the growth and survival of barbel, *Barbus barbus* L.. *Fisheries Management and Ecology*. 3: 181-183.
- Frederick J, 1997. Evaluation of fluorescent elastomer injection as a method for marking small fish. *Bulletin of Marine Science*. 61: 399-408.
- Goldsmith RJ, Closs GP, Steen H, 2003. Evaluation of visible implant elastomer for individual marking of small perch and common bully. *Journal of Fish Biology*. 63: 631-636.
- Gries G, Letcher BH, 2002. Tag retention and survival of age-0 Atlantic salmon 19 following surgical implantation with passive integrated transponder tags. *North American Journal of Fisheries Management*. 22: 219-222.
- Griffiths SP, 2002. Retention of visible implant tags in small rockpool fishes. *Marine Ecology Progress Series*. 236: 307-309.
- Haines GB, Modde T, 1996. Evaluation of marking techniques to estimate population size and first-year survival of Colorado Squawfish. *North American Journal of Fisheries Management*. 16: 905-912.
- Hale RS, Gray JH, 1998. Retention and detection of coded wire tags and elastomer tags in trout. *North American Journal of Fisheries Management*. 18: 197-201.
- Hughes TC, Josephson DC, Krueger CC, Sullivan PJ, 2000. Comparison of large and small visible implant tags: retention and readability in hatchery brook trout. *North American Journal of Aquaculture*. 62: 27-278.
- Ingram B, 1994. Tagged fish and microchips. *Australian Fisheries*. 53 (7): 29-32.
- Jerry DR, Stewart T, Purvis IW, Piper LR, 2001. Evaluation of visual implant elastomer and alphanumeric internal tags as a method to identify juveniles of the freshwater crayfish, *Cherax destructor*. *Aquaculture*. 193, (1-2), 1: 149-154.
- Landolt L, 1989. NMFS PIT- Tag experiment. Appendix A.
- Mahapatra KD, Gjerde B, Reddy PVG, Sahoo M, Jana RK, Saha JN, Rye M, 2001. Tagging: on the use of passive integrated transponder PIT tags for the identification of fish. *Aquaculture Research*. 32: 47-50.
- Malone JC, Forrester GE, Steele MA, 1999. Effects of subcutaneous microtags on the growth, survival, and vulnerability to predation of small reef fishes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 237: 243-253.
- Navarro A, Oliva V, Zamorano JM, Ginés R, Afonso JM, 2004. Evaluación del sistema de marcaje PIT (*Passive Integrated transponder*) en alevines de dorada (*Sparus aurata*), Revista ITEA, 100: 141-145.
- Navarro A, Oliva V, Zamorano JM, Ginés R, Izquierdo M, Astorga N, Afonso JM, 2006. Evaluation of PIT system as method to tag fingerling of gilthead seabream (*Sparus auratus* L.): effects on growth, mortality and tag loss. *Aquaculture* (en prensa).
- Olsen EM, Voellestad LA, 2001. An evaluation of visible implant elastomer for marking age-brown trout. *North American Journal of Fisheries Management*. 21: 967-970.
- Prentice EL, Waknitz F, Maynard DJ, Sparks-McConkey P, McCutcheon CS, Steffens W, Jensen AL, Stuehrenberg LC, Downing SL, Sanford B, Newcomb TW, Neff D, 1989. "Study to Determine the Biological Feasibility of a New Fish Tagging System". Project No. 1983-31900, 193 electronic pages, (BPA 10 Report DOE/BP-11982-4).
- Prentice EF, Flagg TA, McCutcheon CS, 1990. Feasibility of using Implantable Passive Integrated Transponder PIT tags in Salmonids. *American Fisheries Society Symposium*. 7: 317-322.
- Quartararo N, Bell JD, 1992. Effect of intraperitoneal passive implantable transponder (PI) tags on the growth and survival of juvenile snapper, *Pagrus auratus* (Bloch and Schnei-

- der). *Aquaculture and Fisheries Management*. 23: 543-548.
- Willis TJ, Babcock RC, 1998. Retention and in situ detectability of visible implant fluorescent elastomer VIFE tags in *Pagrus auratus* Sparidae. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 32: 247-254.
- Willis TJ, Parsons DM, Babcock RC, 2001. Evidence for long-term site fidelity of snapper *Pagrus auratus* within a marine reserve. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 35: 581-590.
- (Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Estima de heredabilidades para caracteres de crecimiento y tamaño de órganos cardiorrespiratorios en salvelino (*Salvelinus alpinus*)

M.A. Montañez*, R. Ginés*,***, A. Navarro*, J.M. Afonso*,
H. Thorarensen**

* División de Acuicultura y Genética Marina. Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña s/n, 35416 - Arucas, Spain.

** Hólar University College, Hólum í Hjaltadal, 551 Sauðárkrókur, Iceland.

*** Autor a quien hay que dirigir la correspondencia: Tel.: 928451112; Fax.: 928451142; e-mail: rgines@dpac.ulpgc.es. Rafael Ginés Ruíz. División de Acuicultura y Genética Marina. Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria. C/. Trasmontaña s/n - 35416 - Arucas. Las Palmas - Spain.

Resumen

En este estudio se estimaron las heredabilidades para caracteres de crecimiento a distintas edades y tamaño de órganos cardiovasculares al sacrificio, en salvelino (*Salvelinus alpinus*). Se utilizaron 1325 descendientes provenientes de 19 padres y 35 madres, a partir de dos estirpes (580 residentes y 745 anádromos), los cuales fueron cultivados bajo tres temperaturas distintas (479, 428 y 418 peces a 5°C, 10°C y 15°C, respectivamente). Se utilizó un modelo animal considerando como efectos fijos el tanque/temperatura, la maduración, el sexo y la estirpe. Las estimas de las heredabilidades fueron 0,54±0,07, 0,45±0,07, 0,36±0,06, 0,31±0,05 para el peso a la edades de 342, 458, 591 y 695 días, respectivamente. Para estas mismas edades, las heredabilidades para la longitud fueron 0,56±0,08, 0,41±0,06, 0,36±0,06, 0,31±0,06, respectivamente. En los caracteres anatómicos, corregidos para el peso al sacrificio (695 días), las heredabilidades fueron 0,30±0,03 para branquias y 0,20±0,03 para el corazón. Todas estas estimaciones ponen de relieve una importante componente genética aditiva en *Salvelinus alpinus*.

Palabras clave: Heredabilidad, crecimiento, branquia, corazón, salvelino, *Salvelinus alpinus*

Summary

Estimation of heritabilities for growth and cardiorespiratory organ traits in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L.

In this study, the heritabilities for growth and cardiorespiratory organ traits in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.), at slaughtering size, were estimated. A sample of 1325 offspring of 19 sires and 35 dams, from two strains (580 residential and 745 anadromous fish) and cultured under three temperatures (479, 428 and 418 fish at 5°C, 10°C and 15°C, respectively), were analyzed for growth and anatomical characters. An animal model was applied on data base using tank/temperature, sex, maturation and strain as fixed factors. The estimates of heritabilities were 0.54±0.07, 0.45±0.07, 0.36±0.06, 0.31±0.05, for weight at days 342, 458, 591 and 695 respectively. Also for these ages, the estimates of heritabilities for length were 0.56±0.08, 0.41±0.06, 0.36±0.06, 0.31±0.06, respectively. Concerning to the weight of anatomical characters, corrected with slaughtering weight (day 695), 0.30±0.03 for gill and 0.20±0.03 for heart were estimated. All these estimations reported an important additive genetic component in *Salvelinus alpinus*.

Key words: Heritability, growth, gill, heart, Arctic charr, *Salvelinus alpinus*

Introducción

Los salmónidos presentan una variación genética considerable para caracteres de producción tales como el peso a distintas edades y la tasa de crecimiento (Wangila y Dick, 1996; Bonnet *et al.*, 1999; Fishback *et al.*, 2002; Quinton *et al.*, 2005), mostrando importantes correlaciones entre caracteres de producción tempranos y tardíos en distintos momentos de la ontogenia (Fishback *et al.*, 2002).

El salvelino (*Salvelinus alpinus* L.) es un salmónido paleártico de gran importancia económica en los países nórdicos tales como Suecia e Islandia. Particularmente en este último, representa la segunda especie más importante después del salmón del Atlántico, con 1.670 toneladas en 2003, 27% de la producción, de las cuales el 50% son exportadas (FAO, 2006). Se trata de una especie con formas anádromas y residentes en aguas marinas continentales, lagos y ríos (Klemetsen *et al.*, 2003). Las formas anádromas son de más rápido crecimiento, mayor tamaño y tasas de fecundidad alta, y están presentes en un gran número de hábitat. Por el contrario, las formas residentes están adaptadas a las condiciones locales donde habitan.

El salvelino es una especie sobre la que existen programas de selección en curso (Eybórsdóttir *et al.*, 1993), aunque son pocas las estimas de parámetros genéticos que han sido publicadas para caracteres de crecimiento, supervivencia, resistencia a enfermedades y calidad de la carne (Nilsson, *et al.*, 1989; Nilsson, 1990, 1992 y 1994; Eriksson *et al.*, 1993; Elvingson y Nilsson, 1994). En el presente estudio se han estimado las heredabilidades y correlaciones genéticas para caracteres de gran importancia en las poblaciones de cultivo y naturales como son los de crecimiento y los cardiovasculares.

Materiales y métodos

La población de peces utilizada en este estudio procede de dos localidades diferentes: Ölvesvatn (ÖL) y Grenlækur (GR). Los peces considerados como residentes provienen del lago Ölvesvatn, del noroeste de Islandia, mientras que los peces anádromos provienen del río Grenlækur, en el sureste de Islandia. Los individuos utilizados en este estudio fueron cedidos por el Programa de Selección para salvelino de Islandia y las familias se cultivaron en las instalaciones del Hólar University College.

Se establecieron veinticuatro familias para la población de GR y trece para la población de ÖL. Los huevos de cada familia se fertilizaron en otoño de 1997 y se conservaron en tanques separados a 4°C. Después de la eclosión, las larvas de cada una de las familias se criaron en un tanque de 30 litros entre 8 -10 °C. Cuando alcanzaron los 10 gramos de peso, una muestra de descendientes de cada familia fue anestesiada con 0,5 ppm de 2-fenoxietanol en agua y los peces se marcaron individualmente con *Passive Integrated Transponder* (PIT; Trovan Daimler-Benz) en la cavidad abdominal, de manera similar a como se describe en Navarro *et al.* (2004). Entonces, 36 descendientes marcados de cada una de las familias de la población GR se distribuyeron al azar y en igual proporción en tres tanques de 1,6 m³. Esto mismo se realizó para la población de ÖL, pero usando 45 descendientes en otros tres tanques. Dentro de cada población se establecieron tres temperaturas de cultivo, una por tanque (5,0±0,5° C; 9,9±0,6° C y 14,6±0,8° C). Para evitar el efecto de la densidad sobre el crecimiento de los peces ésta se reguló añadiendo peces no marcados a cada tanque y modificando el nivel del agua en cada muestreo. Los peces fueron pesados y medidos a las edades de 342, 458, 591 y 695 días. Además, a la edad de sacrificio

(695 días), en octubre de 1999, a cada pez se le determinó el sexo y se le extrajeron y pesaron las gónadas, las branquias y el ventrículo. Los pesos de estos órganos fueron corregidos respecto al peso del pez. Aquellos peces con una relación gonadal superior al 1,5% fueron considerados como maduros. Los peces se mantuvieron con fotoperiodo natural, el cual fue ajustado con luz artificial, y se alimentaron mediante comederos automáticos con pienso comercial (Laxa Feedmill LTD). La saturación de oxígeno en el agua fue del 70%.

Las estimas de las heredabilidades se llevaron a cabo mediante un modelo animal, considerando el tanque/temperatura, la maduración, el sexo y la estirpe como efectos fijos y el animal como efecto aleatorio, mediante el programa VCE (v 5.1.2) (Kovač et al., 2002).

Resultados y discusión

A la edad de 342 días, el peso medio de los peces fue de $16,4 \pm 5,4$ g y $16,1 \pm 4,8$ g para las familias de GR y ÖL, respectivamente, mientras que a la edad de sacrificio, 695 días, los pesos fueron de $476,3 \pm 8,5$ g y $444,6 \pm 9,6$ g, respectivamente. Las estimas de heredabilidad para el peso y la longitud a las distintas edades son mostradas en las tablas 1 y 2. Como puede apreciarse ambos caracteres presentaron los mismos rangos de variación entre edades, que fue desde 0,31 a 0,55. Estas estimas fueron muy similares a las descritas por Nilsson (1990) a las edades de 2 y 3 años en salvelino, las cuales incrementaron con la edad, y algo superiores a las descritas Nilsson (1994) a las edades de 12 y 18 meses, muy similares entre sí. Sin embargo, en el presente estudio la heredabilidad decreció con la edad. Esto fue debido, posiblemente, al efecto tanque que se produjo desde el estadio de huevo hasta el momento

en que los peces alcanzaron la talla óptima para ser marcados individualmente y puestos en un mismo tanque hasta el sacrificio, momento a partir del cual se homogenizaron las fuentes ambientales de parecido, que fueron diluyéndose con el desarrollo. Además, a partir de los 342 días de edad se confundió el efecto tanque con la temperatura. Por otro lado, también es importante considerar que las estimas del presente estudio tuvieron en cuenta ambas estirpes, cuando Nilsson (1994) sólo estudió una población procedente del lago Hornavan, al norte de Suecia. De hecho, por ejemplo, la heredabilidad del peso de la población residente de este estudio (ÖL), a la edad de 695 días meses, fue inferior ($0,18 \pm 0,07$).

Los valores de correlación genética entre longitudes fueron positivos y superiores a los encontrados entre pesos a distintas edades (tablas 1 y 2), si bien las correlaciones entre pesos y longitudes a la misma edad fueron las más altas ($0,95 \pm 0,01$ y $0,92 \pm 0,02$, a los 591 y 695 días de edad, respectivamente). Todos estos resultados están en concordancia con los descritos por Nilsson (1994) y quizás tienen una doble importancia. En primer lugar, ya que posibilitan la realización de preselección de animales en el estado de juvenil evitando así el cultivo de una gran biomasa hasta la talla de sacrificio. En segundo lugar, porque unas heredabilidades notables como las descritas para el peso y la longitud, permite simplificar la selección para otros caracteres relevantes, con los que están genéticamente correlacionados, y cuya evaluación representa un riesgo importante para las producciones. Este es el caso de la resistencia al hongo *Saprolegnia spp*, que produce importantes pérdidas económicas en el cultivo de salvelino y está positivamente correlacionada con el peso, la longitud y la compacidad (Nilsson, 1992), lo que hace que la selección indirecta sea una estrategia a considerar.

En cuanto a la compacidad o factor de condición, esta presentó una heredabilidad de $0,23 \pm 0,04$, y unas correlaciones genéticas con el peso y la longitud, a la edad de sacrificio (695 días), de $0,28 \pm 0,13$ y $-0,12 \pm 0,15$ respectivamente. A pesar de que los errores típicos de las estimas son elevados, los resultados están en consonancia con los descritos por Nilsson (1990 y 1994), e ilustran que una selección para el factor de condición es

posible, y que la selección del peso puede afectar a la forma del pez, todo lo cual cobra aún más importancia por la relación implícita que existe entre la forma del pez y factores de producción como el rendimiento filete. En este sentido, Gjerde y Schaeffer (1989) concluyeron que el factor de condición es una medida adecuada de la forma del pez, por la elevada correlación genética que encontraron entre ambas.

Tabla 1. Estimaciones de heredabilidades (en la diagonal) y correlaciones genéticas (encima de la diagonal) para el peso a distintas edades

Table 1. Estimate of heritabilities (diagonal) and genetic correlations (above diagonal) for weight at different ages

	Peso a distintas edades			
	342	458	591	695
342	$0,54 \pm 0,07$	$0,58 \pm 0,09$	$0,36 \pm 0,12$	$0,05 \pm 0,15$
458		$0,45 \pm 0,07$	$0,87 \pm 0,03$	$0,62 \pm 0,09$
591			$0,36 \pm 0,06$	$0,87 \pm 0,03$
695				$0,31 \pm 0,05$

Tabla 2. Estimaciones de heredabilidades (en la diagonal) y correlaciones genéticas (encima de la diagonal) para la longitud a distintas edades

Table 2. Estimate of heritabilities (diagonal) and genetic correlations (above diagonal) for length at different ages

	Peso a distintas edades			
	342	458	591	695
342	$0,56 \pm 0,08$	$0,65 \pm 0,07$	$0,46 \pm 0,11$	$0,28 \pm 0,13$
458		$0,41 \pm 0,07$	$0,88 \pm 0,03$	$0,71 \pm 0,07$
591			$0,36 \pm 0,06$	$0,93 \pm 0,02$
695				$0,31 \pm 0,06$

Las estimaciones de heredabilidad para branquia y ventrículo constituyen las primeras estimaciones que se realizan en salvelino, denotando una importante componente genética aditiva. La relevancia de estos caracteres proviene del hecho de que la mejor adaptación diferencial de las distintas poblaciones de salvelino tiene su reflejo en adaptaciones fisiológicas

y morfológicas (Skúlason et al., 1992). Los frecuentes cambios en temperatura, y consecuentemente en los niveles de oxígeno, a los que son expuestos tanto las formas anádromas como residentes hace que los sistemas vasculares y respiratorio cobren una gran importancia en la adaptabilidad a los distintos hábitat (Taylor, 1992), y por ende

en sus rendimientos productivos. Así, las correlaciones genéticas entre el peso frente a la branquia y el ventrículo del presente estudio fueron $-0,63 \pm 0,06$ y $0,18 \pm 0,09$ respectivamente. Es decir, que la estructura de las branquias puede ser un reflejo de la estrategia metabólica de los peces (Perry, 1992; Wilson et al., 1994), como es el caso de los peces con natación rápida que se caracterizan por tener branquias con un mayor número y densidad de lamelas y por tanto mayor superficie de intercambio (Stevens y Sutterlin, 1999). Desde una óptica inversa, la

diversidad del tamaño branquial permitiría inferir el espectro de hábitat de procedencia de los peces (De F. Mazon et al., 1998; Hughes y Iwai, 1978; Johnson y Ress, 1988; Randall, 1970; Randall y Daxboeck, 1984). Por otro lado, existen evidencias de asociación entre las actividades metabólica y cardíaca, (Barron et al., 1987; Gamperl y Farrell, 2004; Pelster, 2003), donde las tasas metabólicas están correlacionadas con el volumen sanguíneo y con el tamaño del corazón (Brodeur et al., 2001; Clarkson et al., 2005; Goolish y Adelman, 1987).

Tabla 3. Estimaciones de heredabilidades (en la diagonal) y correlaciones genéticas (encima de la diagonal) para el peso de la branquia y el ventrículo al sacrificio (695 días)
Table 3. Estimate of heritabilities (diagonal) and genetic correlations (above diagonal) for weight of gill and heart at slaughtering (695 day)

	Peso Branquia	Peso Ventrículo
Peso Branquia	0,30±0,03	-0,23±0,13
Peso Ventrículo		0,20±0,03

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a la dirección que lleva a cabo el Programa de Selección para salvelino de Islandia la cesión de los peces, así como a Greg Malocca por su inestimable ayuda durante los muestreos.

Bibliografía

- Barron MG, Tarr BD, Hayton WL, 1987. Temperature-dependence of cardiac output and regional blood flow in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* 31: 735-744.
- Bonnet S, Haffray P, Blanc JM, Vallee F, Vauchez C, Faure A, Fauconneau B, 1999. Genetic variation in growth parameters until commercial size in diploid and triploid freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and seawater brown trout (*Salmo trutta*). *Aquaculture*. Vol. 173, no. 1-4: 359-375.
- Brodeur JC, Dixon DG, Mckinley RS, 2001. Assessment of cardiac output as a predictor of metabolic rate in rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 58: 439-452.
- Clarkson K, Kieffer D, Currie S, 2005. Exhaustive exercise and the cellular stress response in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 140A: 225-232.
- De F. Mazon A, Fernades MN, Nolasco MA, Severi W, 1998. Functional morphology of gills and respiratory area of two active rheophilic fish species, *Plagioscion squamosissimus* and *Prochilodus scrofa*. *Journal of Fish Biology* 52: 50-61.

- Elvingson P, Nilsson J, 1994. Phenotypic and genetic parameters of body and composition-al traits in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *Aquaculture Research* 25: 677-685.
- Eriksson L-O, Alanara A, Braennaes E, Nilsson J, Kiessling A, 1993. Arctic charr farming in Sweden. *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada*. St.Andrews NB.
- Eypórsdóttir E, Péttersdóttir P, Svavarsson E, 1993. Samanbudsúr á bleikjustofnum. *Ráðunautafundur*: 243-260.
- F.A.O., 2006. http://www.fao.org/index_es.htm
- Fishback AG, Danzmann RG, Ferguson MM, Gibson JP, 2002. Estimates of genetic parameters and genotype by environment interactions for growth traits of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. Vol. 206, no. 3-4: 137-150.
- Gamperl AK, Farrell AP, 2004. Cardiac plasticity in fishes: environmental influences and intraspecific differences. *The Journal of Experimental Biology* 207: 2539-2550.
- Gjerde B, Schaeffer Jr, 1989. Body trait in rainbow trout. II. Estimates of heritabilities and of phenotypic and genetic correlations. *Aquaculture*. 80: 25-44.
- Goolish EM, Adelman FR, 1987. Tissue-specific Cytochrome Oxidase activity in largemouth Bass: the metabolic costs of feeding and growth. *Physiological Zoology* 60: 454-464.
- Hughes GM, Iwai T, 1978. A morphometric study of the gills in some Pacific deep-sea fishes. *Journal Zoology London* 184: 155-170.
- Johnson L, Rees CJC, 1988. Oxygen consumption and gill area in relation to habitat and lifestyle of four crab species. *Comparative Biochemistry and Physiology* 89A: 243-246.
- Klemetsen A, Amundsen PA, Dempson JB, Jonsson B, Jonsson N, O'Connell MF, Mortensen E, 2003. Atlantic salmon *Salmo salar* L., brown trout *Salmo trutta* L. and Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): a review of aspects of their life histories. *Ecology of Freshwater Fish* 12: 1-59.
- Kovač m, Groeneveld E, García-Cortés LA, 2002. VCE-5: A package for the optimization of dispersion parameters. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France. August 20-23.
- Navarro A, Oliva V, Zamorano MJ, Ginés R, Afonso JM, 2004. Evaluación del sistema de marcaje PIT (*Passive Integrated Transponder*) en alevines de dorada (*Sparus auratus* L.). ITEA 100A, nº3: 141-145.
- Nilsson J, Billard R, Pauw NDE, 1989. Selective breeding of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Special Publication, European Aquaculture Society*.
- Nilsson J, 1990. Heritability estimates of growth-related traits in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* 84, 3-4: 211-217.
- Nilsson J, 1992. Genetic variation in resistance of Arctic char to fungal infection. *Journal of Aquatic Animal Health* 4, 2: 126-128.
- Nilsson J, 1994. Genetics of growth of juvenile Arctic char. *Transactions of the American Fisheries Society* 123, 3, 430-434.
- Pelster B, 2003. Developmental plasticity in the cardiovascular system of fish, with special reference to the zebrafish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 133A: 547-553.
- Perry SF, 1992. Morphometry of vertebrate gills and lungs: a critical review, pp. 57-77. En *Oxygen Transport in Biological Systems* (Egginton, S. and Ross, H. F., eds). Cambridge: Cambridge University Press. UK
- Quinton CD, McMillan I, Glebe BD, 2005. Development of an Atlantic salmon (*Salmo salar*) genetic improvement program: Genetic parameters of harvest body weight and carcass quality traits estimated with animal models. *Aquaculture* 247: 211-217.
- Randall DJ, 1970. Gas exchange in fish, pp. 253-292. En *Fish Physiology*. Vol IV. The nervous system, circulation and respiration (Hoar, W. S. and Randall, D. J., eds). Academic Press, Inc. USA
- Randall D, Daxboeck C, 1984. Oxygen and carbon dioxide transfer across fish gills, pp. 263-314.

- En *Fish Physiology*. Vol X. Part A. Anatomy, gas transfer and acid-base regulation (Hoar, W. S. and Randall, D. J., eds), Academic Press, Inc. USA
- Skúlason S, Antonsson T, Gudbergsson G, Malmquist H, Snorrason S, 1992. Variability in Icelandic Arctic charr. *Búvísindi. Icelandic Agricultural Science* 6: 143-153.
- Stevens ED, Sutterlin A, 1999. Gill morphometry in growth transgenic Atlantic salmon. *Environmental biology of fishes* 54, 405-411.
- Taylor EW, 1992. Control of heart and cardiorespiratory interactions, pp. 343-387. En *Fish Physiology*. Vol XII. Part B. The cardiovascular system (Hoar WS, Randall DJ, Farrell AP, eds). Academic Press, Inc. USA
- Wangila BCC, Dick TA, 1996. Genetic effects and growth performance in pure and hybrid strains of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) (order: Salmoniformes, family: Salmonidae). *Aquaculture*. Vol. 27, no. 1: 35-41.
- Wilson RW, Bergman HL, Wood CM, 1994. Metabolic costs and physiological consequences of acclimation to aluminium in juvenile Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2: Gill morphology, swimming performance, and aerobic scope. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51: 536-544.
- (Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Conexión entre rebaños de cabras Murciano-Granadinas de la Comunidad Valenciana vía inseminación

E.A. Gómez*, A. Grimal*, I. Salvador*, M.P. Viudes-de-Castro*, J. Bernácer*, B. Martínez-Navalón**, E. Hernández**, A. Ribelles**, M.A. Silvestre*

*CITA-IVIA. Centro de Investigación y Tecnología Animal. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Apdo 187. Segorbe. 12400 Castellón. egomez@ivia.es

** AMURVAL. Asociación de Ganaderos de Caprino de Raza Murciano-Granadina de la Comunidad Valenciana. C/ Trinidad 1. Silla. 46460 Valencia.

Resumen

Se pretende conectar los rebaños de AMURVAL así como su incrustación en el programa nacional gestionado desde el INIA, gracias al plan de inseminación preciso para el testaje de los primeros machos del esquema de mejora genética de la producción lechera de cabras Murciano Granadinas. En las campañas 2004 y 2005 se han utilizado 13 machos. De la primera campaña hay 8 rebaños 'conectados' con 10 o más hembras inscritas en el libro genealógico hijas de inseminación de al menos tres machos diferentes. La distribución de los machos entre rebaños y entre campañas permitirá la estimación de los valores genéticos con mayor precisión, así como las distinciones entre efectos de rebaño

Palabras clave: conexión entre rebaños, evaluación genética, producción lechera, cabra Murciano Granadina

Summary

Connectedness between Murciano-Granadina goat herds through artificial insemination in the Valencian Community

Links between goat herds of the AMURVAL association must be established and herds have to be inlaid into the national breeding program managed by INIA in collaboration with the ACRIMUR association. Artificial insemination is a necessary tool for testing candidate males by their progeny, and reference sires allow the connectedness between herds. Thirteen sires were working during years 2004 and 2005. In the first insemination season, 8 herds were considered as connected, with 10 or more daughters on the herd-book sired by three or more different males. Rational distribution of sires among herds and between seasons will improve accuracy of estimated breeding values of males and the across-herd comparisons.

Key words: connectedness, genetic evaluation, milk yield, Murciano Granadina goats

Introducción

Gracias a la colaboración con la Asociación de Ganaderos de Caprino de Raza Murciano-Granadina de la Comunidad Valenciana, el

CITA-IVIA ha desarrollado el proyecto RTA03-100 (Programa de Selección de la raza caprina Murciano Granadina en la Comunidad Valenciana), con la puesta en marcha y consolidación del programa de mejora con la

implicación del sector productivo y desarrollando un protocolo de inseminación con semen congelado (Salvador *et al.*, 2005).

En las evaluaciones genéticas de la Asociación española de criadores de cabras murciano-granadinas (ACRIMUR) que recogían datos de 181 ganaderías, se utiliza un criterio laxo para definir un rebaño como conectado si dispone de datos de 10 hijas de al menos tres machos (Jurado y Castillo-Gómez, 2005). La asociación AMURVAL incluye a 24 ganaderías, con un censo aproximado de 8600 cabras. Ninguna de ellas aparecía como conectada dado el casi nulo desarrollo de la inseminación a pie de granja. Es difícil establecer un criterio definiendo un umbral del número de hijas por macho en un número de rebaños, pues es tan importante el reparto de descendientes entre rebaños como el número total de descendientes. Fouilleux y Laloë (2002), en vacuno de carne, consideraban un rebaño como conectado cuando tenía al menos 5 hijas de machos que tuvieran 100 hijas en más de 29 rebaños. Las conexiones genéticas entre rebaños permiten comparar entre individuos (que producen en el mismo o diferente rebaño) o realizar contrastes entre rebaños. La precisión de la evaluación genética se ve afectada. A menor grado de conexión, aumenta la varianza del error de predicción (Kennedy y Trus, 1993) y se reduce el coeficiente de determinación, propuesto por Laloë *et al.* (1996). Podría ser recomendable calcular las correlaciones medias entre valores genéticos para la detección de bolsas de datos no conectadas (Moreno *et al.*, 2003).

El objetivo del trabajo ha sido instaurar y mejorar el grado de conexión entre rebaños de la asociación AMURVAL para mejorar la precisión de las evaluaciones futuras, así como su inserción en la estructura de la asociación ACRIMUR, mediante inseminación con machos de OVIGEN (Toro, Zamora) y de CITA (Segorbe, Castellón) siendo la meta

final el obtener un número suficiente de hijas por macho con lactaciones válidas en diferentes rebaños.

Material y Métodos

La población candidata a inseminación eran, aproximadamente, 3900 cabras. En función de las solicitudes, se planificó la aplicación de las dosis de los diferentes machos entre las ganaderías. El protocolo de sincronización y el procedimiento de inseminación se describe en Salvador *et al.* (2005). Con posterioridad se recogían en las explotaciones los datos de partos, incluyendo número de nacidos y fecha de parto. A partir de las anotaciones en el libro genealógico de ACRIMUR se obtenían los datos de hijas inscritas. Finalmente, los datos de control lechero de AMURVAL permitirán disponer de información de estas hembras nacidas de inseminación.

Los machos de OVIGEN fueron elegidos por ACRIMUR. Los machos del CITA-IVIA eran hijos de las mejores hembras según una evaluación productiva intrarrebaño.

Resultados y Discusión

En la campaña 2004 se utilizó semen congelado de 6 machos de OVIGEN, con 552 cabras inseminadas en 17 rebaños (tabla 1). Se inseminaron entre 23 y 49 hembras por rebaño, siempre con dosis de tres o más machos. Ello permitió utilizar entre 80 y 106 dosis por macho (Gómez *et al.*, 2005). Se pudo recoger información de 13 rebaños, con 225 partos (41% sobre inseminaciones totales realizadas), con un total de 433 nacidos (entre 65 y 90 por macho). El número de hijas inscritas en el libro genealógico fue de 126 (23%

sobre inseminaciones totales) y rondó entre 17 y 27 hijas por macho en prueba.

Se producen importantes pérdidas en la cadena de información. En Arrebola *et al.* (2005), de 1864 inseminaciones, lograban alcanzar las 247 hijas en control (13%), y 98 lactaciones completadas, con un promedio de 35 hijas por macho en 8 ganaderías. En AMURVAL, con los datos de esta primera campaña, en 8 de los rebaños se ha llegado a tatuar 10 o más hijas de tres o más machos. En las evaluaciones de ACRIMUR de los últimos años sólo 15 de las 181 ganaderías implicadas se consideraban conectadas (Jurado y Castillo-Gómez, 2005).

En la campaña 2005 se inseminaron 604 animales de 16 explotaciones con semen de 12 machos (tabla 1). Se utilizaron dosis congeladas de 9 machos de OVIGEN y dosis refrigeradas y congeladas de 3 machos del CITA-IVIA. De éstos últimos se aplicaron entre 50 y 88 dosis, en 13 rebaños. La fertilidad a ecografía ha sido del 46%. Todos los machos que se han utilizado en las dos campañas superaron las 100 dosis aplicadas (entre 101 y 129). En la base de datos de ACRIMUR, en el período 1995-2003, sólo 7 machos disponían de más de 50 hijas tras cinco campañas de inseminación (Jurado y Serrano, 2004).

Tabla 1. Número de inseminaciones, número de machos implicados, porcentaje sobre inseminaciones de partos, de hijos nacidos y de hembras inscritas en el libro genealógico en las campañas de inseminación 2004 y 2005

Table 1. Number of inseminated goats (N° IA) and concerned males (N° machos), percentage of parturitions (%Partos), of sons (%Nacidos) and of recorded daughters on herd-book (%Inscritas) over inseminated doses (in percentage) per herd (Rebaño) during 2004 and 2005 seasons

Rebaño	N° IA	N° machos	2004			2005	
			%Partos	%Nacidos	%Inscritas	N° IA	N° machos
1	31	3	84	68	55	37	4
2	46	5	-	-	-		
3	44	6	50	84	25	85	10
4	29	4	45	83	35	45	4
5	26	3	35	-	-	24	6
6	32	4	66	125	38	26	5
7	35	4	43	100	34		
8	28	4	79	175	43	33	4
9	34	4	41	79	15	32	5
10	23	3	74	130	39	27	5
11	44	6	77	152	57	63	10
12						35	7
13	36	4	-	-	-		
14	25	3	48	100	40		
15	23	3	-	-	-		
16	23	3	48	96	39	22	7
17						20	4
18	24	3	38	42	-	30	2
19	49	4	37	63	-	34	4
20						64	7
21						27	6
Totales	552	6	42%*	78%	23%	604	12

Es necesario optimizar la información producida por dosis inseminada, con la implicación activa del ganadero y la asociación. Un punto importante, previo a la inseminación, es la elección del lote de hembras a inseminar. Un ganadero no dejará hijas para la reposición de aquellas hembras que él no considere aptas, pese a haber sido inseminadas. La obligación legal de inseminar el 20% del rebaño no llegaría a ser efectiva aun que se aplicara.

De acuerdo con el BOE (2005) debe registrarse el parto y sus condiciones (fecha, número de nacidos, sexo, posibles abortos), así como proceder a la identificación temprana de los descendientes y su seguimiento durante la cría y recría. Los errores de asignación de maternidades y paternidades) son subsanables y detectables mediante pruebas de control de filiación (Bouzada et al., 2005; Quiroz et al., 2005). La muerte o eliminación por causas patológicas, la venta de hijas a matadero o a ganaderías no sometidas a control lechero oficial provocan falta de información, así como las pérdidas producidas por ganaderías que abandonan la asociación o que no continúan en control lechero oficial. También las hijas de inseminación que permanecen en la explotación pueden no llegar a proporcionar lactaciones válidas, ya sea por problemas durante la gestación, el parto o en la propia lactación. Es necesario el seguimiento de la reposición, especialmente de las hijas de inseminación, pero sin que se produzcan tratamientos preferenciales.

Bibliografía

- Arrebola FA, Gil MJ, Beltrán M, Molina A, Menéndez-Buxadera A, Serradilla JM, 2005. Mejora genética del caprino Murciano-Granadino. Situación actual en el núcleo de los Pedroches. XXX Jornadas Científicas SEOC, 117-120, Granada.
- B.O.E., 2005. R.D. 368/2005 de 8 de abril. Control oficial del rendimiento lechero para la evaluación genética en las especies bovina, ovina y caprina. BOE, 13918-13937.
- Bouzada JA, Prado C, Areán H, Muíño R, López M, Fernández A, Canals A, Castillo J, Viana JL, 2005. Metodología analítica para el control genealógico en la raza caprina murciano granadina mediante análisis de microsatélites de ADN. XXX Jornadas Científicas SEOC, 121-124, Granada.
- Fouilleux MN, Laloë D, 2002. Évolution de la méthode d'appréciation de la connexion entre troupeaux. Note IBOVAL n° 28. Institut de l'Élevage, INRA, París, Francia.
- Gómez EA, Silvestre MA, Viudes De Castro MP, Salvador I, Bernacer J, Ribelles A; Hernández E, Martínez-Navalón B, 2005. Desarrollo del esquema nacional de mejora genética de la cabra Murciano-Granadina en la Comunidad Valenciana. XXX Jornadas Científicas SEOC, 128-130, Granada.
- Jurado JJ, Castillo-Gómez J, 2005. Programa de selección genética de la raza caprina Murciano-Granadina. XXX Jornadas Científicas SEOC, 131-134, Granada.
- Jurado JJ, Serrano M, 2004. II Catálogo de Reproductores del Esquema de Selección Genética de la raza caprina Murciano-Granadina. I.N.I.A.
- Kennedy BW, Trus D, 1993. Considerations on genetic connectedness between management units under an animal model. J. Anim. Sci. 71: 2341-2352.
- Laloë D, Pocas F, Ménissier F, 1996. Considerations about measures of precision and connection in mixed linear models of genetic evaluation. Genet. Sel. Evol 28: 359-378.
- Moreno A, Carabaño MJ, Díaz C, 2003. Uso de la correlación del error de predicción como medi-

da de la conexión entre grupos de comparación. ITEA Extra 24: 567-569.

Quiroz J, Martínez A, Lozano JM, León JM, Delgado JV, 2005. Resultados del control de filiación en cabras murciano granadinas. XXX Jornadas Científicas SEOC, 135-137, Granada.

Salvador I, Viudes-De-Castro MP, Bernácer J, Gómez EA, Silvestre MA, 2005. Factors affecting pregnancy rate in artificial insemination with frozen semen in Murciano-Granadina goats. *Reprod. Domest. Anim.* 40: 526-529.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Resultados preliminares sobre parámetros genéticos para canalización del incremento de peso en ratones

N. Ibáñez*, A. Moreno**, C. Salgado***, P. Piqueras***, B. Nieto***, J.P. Gutiérrez***

* Ctr UdL IRTA, Area Prod Anim, Lleida, 25198 Spain

** Departamento de Mejora Genética Animal, SGIT-INIA, Carretera A Coruña km 7,5, 28040 Madrid. Spain

*** Departamento de Producción Animal. Universidad Complutense de Madrid. Av. Puerta de Hierro s/n. 28040 Madrid. Spain, e-mail: gutgar@vet.ucm.es

Resumen

El presente trabajo estudió los parámetros genéticos asociados con la variabilidad ambiental del peso a los 21 y 42 días e incremento de peso entre los 21 y 42 días en ratón de laboratorio. Se han analizado datos de 4896 machos procedentes de un experimento de selección llevado a cabo durante 17 generaciones para incremento de peso. Los datos se han analizado mediante metodología bayesiana ajustando dos modelos diferentes, de varianzas homogéneas y de varianzas heterogéneas. La correlación genética entre los caracteres analizados y su variabilidad ambiental fue siempre negativa, variando de -0,22 a -0,61. Los resultados obtenidos permiten concluir la posible existencia de una componente genética en la determinación de la variabilidad ambiental de los caracteres analizados posibilitando su disminución por selección.

Palabras clave: Canalización, Variabilidad ambiental, Ratón, Peso, Ganancia de peso

Summary

Preliminary results about genetic parameters associated with weight gain in mice

The aim of this study was to estimate the genetic parameters associated to the environmental variability of the following traits in mice: weight at 21 days, weight at 42 days and weight gain between 21 and 42 days. Data were obtained from a experimental mice population selected during 17 generation for increase of adult weight and included 4896 males. Data were analysed using Bayesian procedures after fitting two different models: that of homogeneous variances and that of heterogeneous variances. Genetic correlation between the analysed traits and their variability was always negative ranking from -0.22 to -0.61. Results allow concluding that there is a possible genetic component affecting the analysed traits thus making possible its reduction by selection.

Key words: Canalisation, Environmental variability, Mice, Weight, Weight gain

Introducción

El objetivo principal de la Mejora Genética ha sido el incremento de la media de caracteres productivos. En los últimos años la producción animal se está orientando hacia

la calidad y homogeneidad de los productos por lo que el estudio de la variabilidad de los caracteres productivos y su posible disminución por medio de selección (canalización) es una vía de trabajo de interés creciente. El peso corporal a una edad fija o la

ganancia en un período de tiempo son caracteres económicos de importancia en producción animal. La selección para incremento de peso durante un período determinado suele realizarse desde el destete hasta la madurez porque esta fase presenta una menor dependencia del efecto materno que la fase predestete. La enorme variabilidad del incremento de peso en distintas especies supone un coste de carácter extraordinario en poblaciones pecuarias al obligar a realizar reestructuraciones de lotes de animales. Además, un desigual crecimiento de animales de la misma edad provoca una competencia entre ellos que en muchos casos lleva a mortalidad de los más débiles (Poignier *et al.*, 2000).

SanCristobal-Gaudy *et al.* (1998) han desarrollado un modelo para estudiar los parámetros implicados en la genética de la variabilidad ambiental, así como un algoritmo del tipo EM para resolverlo. Sorensen y Waagepetersen (2003) han propuesto su resolución mediante metodología Bayesiana. Este modelo se ha aplicado mediante diferentes procedimientos para estimar los parámetros genéticos de variabilidad de caracteres como tamaño de camada en ovejas (SanCristobal-Gaudy *et al.*, 2001), peso al nacimiento en cerdos (Bodin *et al.*, 2002; Damgaard *et al.*, 2001; Högberg y Rydhmer, 2000; Huby *et al.*, 2003), peso al nacimiento en conejos (Garreau *et al.* 2004), peso adulto en caracoles (Ros *et al.*, 2004) y tamaño de camada en ratones (Gutiérrez *et al.*, 2006) y cerdos Sorensen y Waagepetersen (2003).

Aunque los trabajos sobre parámetros genéticos relacionados con canalización están aumentado su número, la investigación sobre el control genético de la variabilidad ambiental se encuentra aún en sus comienzos y se precisa de estudios realizados con datos experimentales con una estructura adecuada para su estudio (Ros *et al.*, 2004). El objetivo del presente trabajo

fue estudiar los parámetros genéticos asociados con la variabilidad ambiental del peso a los 21 y 42 días en ratón de laboratorio, así como el incremento de peso entre estas dos edades, aprovechando los datos procedentes de un experimento de selección llevado a cabo durante 17 generaciones para incremento de peso.

Material y Métodos

Los datos utilizados en este trabajo proceden de un experimento previo encaminado a minimizar el incremento de consanguinidad en un proceso de selección vía machos para incremento de peso. En el experimento se utilizó una población de alta variabilidad genética de *Mus musculus* donde se compararon tres métodos de selección diferentes, uno con selección clásica, otro con selección ponderada dejando más descendientes cuanto mejor fuera el animal, y otro con selección clásica pero realizando los cruces por mínimo parentesco. En cada uno de los métodos se establecieron tres réplicas y la selección se realizó durante 17 generaciones (Moreno, 1998). Se han analizado los parámetros genéticos de la variabilidad ambiental de los caracteres peso a los 21 días, peso a los 42 días e incremento de peso de 21 a 42 días en un total de 4896 machos.

Modelos

1) Modelo de varianzas homogéneas. Es el modelo animal clásico que responde a la ecuación:

$$y_i = \mathbf{x}_i' \mathbf{b} + \mathbf{z}_i' \mathbf{u} + \mathbf{w}_i' \mathbf{m} + e_i$$

donde y_i es el valor del carácter del animal i que pertenece a un nivel concreto de los distintos efectos del modelo. El vector \mathbf{b} contiene los 137 niveles del efecto fijo

método-réplica-generación, \mathbf{u} es el vector de parámetros desconocidos del efecto genético directo del animal, \mathbf{m} el vector de parámetros desconocidos del efecto camada con 2.649 niveles y \mathbf{x}_i , \mathbf{z}_i y \mathbf{w}_i son vectores de incidencia de los efectos fijos, del efecto animal y del efecto materno, respectivamente.

2) Modelo de varianzas heterogéneas (San-Cristobal-Gaudy *et al.*, 1998), que responde a la ecuación:

$$y_i = \mathbf{x}_i' \mathbf{b} + \mathbf{z}_i' \mathbf{u} + \mathbf{w}_i' \mathbf{m} + e^{1/2(\mathbf{x}_i' \mathbf{b} + \mathbf{z}_i' \mathbf{u} + \mathbf{w}_i' \mathbf{m})} \varepsilon_i$$

donde \mathbf{b} y \mathbf{b}^* son los vectores de parámetros asociados con los efectos fijos, \mathbf{u} y \mathbf{u}^* los vectores de parámetros asociados al efecto genético directo y \mathbf{m} y \mathbf{m}^* los vectores de parámetros asociados al efecto camada, afectando los primeros a la media del carácter y representando los que llevan el asterisco a los parámetros correspondientes al análisis de la variabilidad ambiental del carácter. Los efectos genéticos \mathbf{u} y \mathbf{u}^* se asume que se distribuyen normalmente

$$\begin{pmatrix} \mathbf{u} \\ \mathbf{u}^* \end{pmatrix} | \sigma_u^2, \sigma_{u^*}^2, \rho, \mathbf{A}, \rho \sim N \left(\begin{pmatrix} 0 \\ 0 \end{pmatrix}, \begin{pmatrix} \sigma_u^2 & \rho \sigma_u \sigma_{u^*} \\ \rho \sigma_u \sigma_{u^*} & \sigma_{u^*}^2 \end{pmatrix} \otimes \mathbf{A} \right)$$

donde σ_u^2 y $\sigma_{u^*}^2$ son la varianza genética aditiva del carácter y de la variabilidad ambiental del carácter, respectivamente, ρ es la correlación genética y \otimes el producto de Kronecker. Los vectores \mathbf{m} y \mathbf{m}^* se asumen como independientes con

$$\mathbf{m} | \sigma_m^2 \sim N(0, \mathbf{I}_m \sigma_m^2) \text{ y } \mathbf{m}^* | \sigma_{m^*}^2 \sim N(0, \mathbf{I}_m \sigma_{m^*}^2)$$

donde σ_m^2 y $\sigma_{m^*}^2$ son la varianza debida al efecto camada del carácter y de la variabilidad del carácter, respectivamente e \mathbf{I}_m es la matriz identidad de orden igual al número de madres. Las distribuciones a priori de los parámetros fueron las utilizadas por Sorensen and Waagepetersen (2003).

Los resultados para cada modelo se calcularon promediando los resultados obtenidos a partir de dos cadenas independientes de Monte Carlo después de un millón de iteraciones del algoritmo descrito por Sorensen and Waagepetersen (2003). La comparación entre modelos se realizó utilizando como criterio el DIC (Spiegelhalter *et al.*, 2002).

Resultados y discusión

La tabla 1 muestra los valores obtenidos para las distintas componentes de varianza con el modelo de varianzas homogéneas para los tres caracteres estudiados (peso a los 21 días, peso a los 42 días e incremento de peso de los 21 a 42 días). La tabla 2 muestra los valores obtenidos para las distintas componentes de varianza con el modelo de varianzas heterogéneas tanto para cada carácter como para su variabilidad ambiental, así como la correlación genética entre cada carácter y su variabilidad.

Los resultados obtenidos con el modelo de varianzas homogéneas muestran que la varianza debida al efecto camada es mayor que la componente aditiva para los tres caracteres estudiados, sobre todo para el carácter peso a los 21 días que depende más del ambiente materno definido por la camada que los otros dos caracteres.

El valor del DIC fue menor en todos los caracteres al aplicar el modelo de varianzas heterogéneas sugiriendo la existencia de distintas componentes explicando la variabilidad ambiental. Cuando comparamos los valores obtenidos con el modelo de varianzas heterogéneas, los valores de las medias posteriores de las varianzas aditivas fueron, en todos los casos, más altos que los obtenidos con el modelo de varianzas homogéneas, mientras que los valores medios posteriores para el efecto materno fueron, en todos los casos, menores.

Tabla 1. Medias de las distribuciones posteriores de las estimaciones de los componentes de varianza obtenidas con el modelo de varianzas homogéneas para los tres caracteres. Los intervalos que contienen el 95% de los valores se presentan entre corchetes

Table 1. Genetic parameters obtained using the model of homogeneous variances. (1) 95% highest posterior density intervals are in squared brackets

Carácter	σ^2_u	σ^2_m	σ^2_e
Peso 21 días	0,30 [0,17 - 0,43]	0,93 [0,84 - 1,02]	0,59 [0,52 - 0,66]
Peso 42 días	1,36 [0,93 - 1,84]	2,27 [1,98 - 2,56]	2,33 [2,10 - 2,60]
Incremento de peso	0,64 [0,42 - 0,89]	1,46 [1,28 - 1,64]	1,64 [1,47 - 1,79]

Tabla 2. Medias de las distribuciones posteriores de las estimaciones de los componentes de varianza y de la correlación genética entre media y variabilidad, obtenidas con el modelo de varianzas heterogéneas para los tres caracteres. Los intervalos que contienen el 95% de los valores se presentan entre corchetes

Table 2. Means of the posterior distribution of variance component estimates and genetic correlation (ρ) using a Bayesian approach under the heteroscedastic model. 95% highest posterior density intervals are in square brackets

Carácter	σ^2_u	σ^2_m	ρ	σ^2_u	σ^2_m
Peso 21 días	0,36 [0,26 - 0,47]	0,87 [0,77 - 0,95]	-0,61 [-0,98, -0,19]	0,20 [0,04 - 0,35]	0,38 [0,27 - 0,49]
Peso 42 días	1,54 [1,17 - 1,96]	1,97 [1,62 - 2,31]	-0,32 [-0,56 - 0,08]	0,37 [0,18 - 0,37]	0,35 [0,26 - 0,43]
Incremento de peso	1,05 [0,70 - 1,39]	0,95 [0,77 - 1,13]	-0,22 [-0,48, -0,01]	0,22 [0,11 - 0,32]	0,65 [0,48 - 0,81]

La correlación genética entre el carácter y la variabilidad ambiental fue negativa en los tres caracteres variando de -0,22 a -0,61. En la bibliografía existen diferentes correlaciones. Hubby et al. (2003) obtienen una correlación genética positiva entre los caracteres peso al nacimiento y su variabilidad y peso a los 21 días y su variabilidad en cerdos, siendo estos valores de 0,57 y 0,42 respectivamente. Para esta misma especie y caracteres, Damgaard et al. (2001) encuentran valores de 0,60 y 0,22, respectivamente. Existen otras evidencias de correlaciones genéticas negativas entre los caracteres y su variabili-

dad. Así, Garreau et al. (2004) seleccionando para disminuir la variabilidad de peso al nacimiento en conejos, encuentran un ligero aumento del peso de los gazapos al nacimiento lo que parece indicar que pueda existir una correlación genética negativa entre la media y la variabilidad del carácter.

En conclusión, parece existir una componente genética en la determinación de la variabilidad ambiental de los caracteres contemplados aquí por lo que su disminución por selección parece posible.

Bibliografía

- Bodin L, Robert-Granié C, Larzul C, Allain D, Bollet G, Elsen JM, Garreau H, de Rochambeau H, Ross M, SanCristobal M, 2002. Twelve remarks on canalisation in livestock Production. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Montpellier
- Damgaard LH, Rydhmer L, Lovendahl P, Grandinson K, 2001. Genetic parameters of within litter variation in piglet weight at birth and at three weeks of age in litters born of Swedish Yorkshire sow. *EAAP 52nd Annual Meeting*. Budapest
- Damgaard LH, Rydhmer L, Lovendahl P, Grandinson K, 2003. Genetic parameters for within-litter variation in piglet birth weight and change in within-litter variation during suckling. *J. Anim. Sci.*, 81: 604-610.
- Fernández J, Moreno A, Gutiérrez JP, Nieto B, Piqueras P, Salgado C, 1998. Direct and correlated response for litter size and litter weight at birth in the first parity in mice. *Livestock Production Science*. 53: 217-223.
- Garreau H, Bolet G, Hurtaud J, Larzul C, Robert-Granié C, Ros M, Saleil G, SanCristobal M, Bodin L, 2004. Homogeneización genética de un carácter. Resultados preliminares de una selección canalizante sobre el peso al nacimiento de los gazapos. *XII Reunión Nacional de Mejora Genética Animal*. Las Palmas.
- Gutiérrez JP, Nieto B, Piqueras P, Ibáñez N, Salgado C, 2006. Genetic parameters for canalisation analysis of litter size and litter weight traits at birth in mice. *Genet. Sel. Evol.*, aceptado para publicación).
- Högberg A, Rydhmer L, 2000. A genetic study of piglet growth and survival. *Acta Agric. Scand. Sect. A., Anim. Sci.*, 50: 300-303.
- Huby M, Gogué J, Maignel L, Bidanel JP, 2003. Corrélations génétiques entre les caractéristiques numériques et pondérales de la portée, la variabilité du poids des porcelets et leur survie entre la naissance et le sevrage. *J. Recherche Porcine*, 35: 293-300.
- Moreno A, 1998. Optimización de la respuesta a la selección en "Mus musculus" con consanguinidad restringida. Tesis Doctoral, Univ. Complutense, Madrid. Colección Tesis Doctorales, T22287.
- Poignier J, Szendrö ZS, Levai A, Radnai I, Biro-Nemeth E, 2000. Effect of birth weight and litter size at suckling age on reproductive performance in does as adults. *World Rabbit Science* 8 (2000) 103-109.
- Ros M, Sorensen D, Waagepetersen R, Dupont-Nivet M, SanCristobal M, Bonnet JC, Mallard J, 2004. Evidence for genetic control of adult weight plasticity in the snail *Helix aspersa*. *Genetics*, 168: 2089-2097.
- SanCristobal M, Elsen JM, Bodin L, Chevalet C, 1998. Prediction of the response to a selection for canalisation of a continuous trait in animal breeding. *Genet. Sel. Evol.*, 30: 423-451.
- SanCristobal M, Bodin L, Elsen JM, Chevalet C, 2001. Genetic components of litter size variability in sheep. *Genet. Sel. Evol.*, 33: 249-271.
- Sorensen D, Waagepetersen R, 2003. Normal linear models with genetically structured residual variance heterogeneity: a case study. *Genet. Res.*, 82: 207-222.
- Spiegelhalter DJ, Best NG, Carlin BP, van der Linde A, 2002. Bayesian measures of model complexity and fit (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society Series B*, 64: 583-639.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Aislamiento, cultivo y caracterización de líneas celulares embrionarias bovinas

A. Rodríguez*, P. Fisher**, R. Alberio**, E. Gómez*, C. Díez *, L.J. Royo*, J.N. Caamaño*, S. Pérez***, K.H.S. Campbell**

* Área de Genética y reproducción Animal. SERIDA-Somió, C/ Camino de los Claveles 604, 33203-Gijón (Asturias), España. E-mail: airodriguez@serida.org.

** Division of Animal Physiology, University of Nottingham. Sutton Bonington Campus. Leicester. LE12 5RD, England.

*** Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo (Asturias), España.

Resumen

El objetivo principal de este trabajo es el aislamiento, cultivo y caracterización de líneas embrionarias producidas a partir del aislamiento de masa celular interna (MCI) de blastocisto bovino. Las MCI se aislaron mediante inmunocirugía y se cultivaron en monocapas de fibroblastos embrionarios de ratón (MEF) mitóticamente inactivados. Tras 10-15 días de cultivo primario, las colonias surgidas se disgregaron, resembraron en una nueva MEF, y cultivaron por tiempo variable para tratar de obtener nuevas colonias. Tanto los cultivos primarios como los pases 2 y 3, así como las colonias supervivientes a la congelación, expresaron los marcadores de pluripotencia SSEA-4, TRA-1-60 y Oct4, y fueron positivos al test de la fosfatasa alcalina. A falta de pruebas para el diagnóstico de la pluripotencia y capacidad de autorrenovación, las células obtenidas presentan parte de las características de las células troncales embrionarias (*ES-like*).

Palabras clave: Células troncales embrionarias, colonia, masa celular interna, blastocisto bovino.

Summary

Isolation, culture, and characterization of embryonic cell lines from bovine blastocysts

This study was aimed to develop methods for isolation, culture and characterization of embryonic cell lines from in vitro produced bovine blastocysts. Inner cell masses arising from blastocysts were isolated by immunosurgery onto mitomycin-C-inactivated mouse embryonic fibroblast (MEF). After 10 to 15 days of culture the primary cell colonies were disaggregated, seeded in a new MEF, and cultured for 3 to 6 days up to form new colonies. The primary cell colonies, passage 2, passage 3 and post-thawed colonies expressed pluripotency markers such as SSEA-4, TRA-1-60 and Oct4 and were alkaline phosphatase positive. More research is needed to confirm pluripotency and self-renewal stage within the obtained embryonic stem-like cells (ES-like).

Key words: Embryonic stem cells, outgrowth, inner cell mass, bovine blastocyst.

Introducción

Las células troncales embrionarias (*Embryonic stem cells*, ES) derivan de la masa celular interna (MCI) del embrión preimplantacional y se caracterizan por su capacidad de proliferar indefinidamente y de diferenciarse en una amplia variedad de tipos celulares. En el estadio avanzado de blastocisto, el epiblasto, o ectodermo primitivo, se localiza en la MCI. La MCI es la fuente última de células ES, que más adelante dará lugar a las tres hojas blastodérmicas embrionarias. (Brook y Gardner, 1997). La mejora genética convencional presenta limitaciones. Los animales seleccionados son mezcla de los caracteres de sus parentales, pudiendo coseleccionarse rasgos no deseados e inadvertidos. La modificación génica por transgénesis puede permitir superar estas limitaciones (Clark y Whitelaw, 2003). El estado de indiferenciación e inmortalidad de las células pluripotentes facilita la modificación génica de estas células.

A pesar de que el conocimiento de los procesos de control del crecimiento y diferenciación celular de las células ES es bastante limitado, la sistematización de su cultivo tendría amplio impacto en biomedicina y en programas de mejora animal y de recuperación de especies. De forma más precisa, se puede decir que las características que debe cumplir una población de células embrionarias para ser pluripotente son: mantenimiento de un cariotipo diploide normal en cultivo, propagación de forma indefinida en cultivo (inmortalidad) y capacidad de diferenciarse en tejidos extraembrionarios y células somáticas representativas de cualquiera de las 3 hojas embrionarias. (Pera y col., 2000). Cuando alguna de estas cualidades no se cumple o no se ha podido demostrar, la línea celular obtenida se denominará *ES-like*, (semejante a las células ES).

Se han logrado líneas celulares embrionarias pluripotentes estables en hámster (Doetschman T. y col., 1988), visón (Sukoyan y col., 1993), mono Rhesus (Thomson y col., 1995), marmota común (Thomson y col., 1996) y humano (Thomson y col., 1998). También en especies de interés ganadero han sido definidas líneas celulares *ES-like*: oveja (Notarianni y col., 1991; Dattena y col., 2006), conejo (Graves y Moreadith, 1993), cerdo (Notarianni y col., 1990; Wheeler, 1994) y vaca (Stice y col., 1996). En bovino, el aislamiento y el cultivo de líneas celulares ES han sido especialmente dificultosos, aunque recientemente Wang y col. (2005) lograron generar y caracterizar células pluripotentes de embriones bovinos.

En este trabajo se describen las primeras etapas del aislamiento y el cultivo de MCI de embriones producidos *in vitro* y la caracterización de las colonias celulares resultantes. Para la identificación del fenotipo de las células ES se ha estudiado su morfología y la expresión de marcadores específicos, así como el mantenimiento de estos rasgos a lo largo del cultivo y de los ciclos de congelación-descongelación.

Material y Métodos

Producción *In Vitro*

Los ovocitos utilizados para la producción *in vitro* se recuperaron de ovarios procedentes del matadero, que se transportaron en una solución salina con antibióticos (NaCl 9 mg/mL, Penicilina 100 UI/mL, Sulfato de Espitreptomicina 100mg/mL) y a una temperatura de 30°C. Los complejos cumulus ovocito (CCO) se obtuvieron por punción de folículos (3 a 8 mm de diámetro). Se seleccionaron solamente ovocitos con cumulus compacto y ooplasma homogéneo. El

medio de maduración consistió en TCM 199, 10% Suero Fetal Bovino (FCS), 1 µg/mL FSH porcina, 5 µg/mL LH ovina y 1 µg/mL 17-β-estradiol. Para la maduración in vitro (MIV) se cultivaron grupos de 40-50 CCO en 500 µL de medio de maduración, a 39°C, 5% CO₂ y atmósfera húmeda durante 24 h.

Los ovocitos se fertilizaron in vitro con espermatozoides motiles obtenidos mediante swim-up a partir de semen congelado y descongelado. Los presuntos cigotos se cultivaron en 500 µL de *modified synthetic oviduct fluid* (mSOF), suplementado con 5% de FCS desde el día 3 al día 9 del cultivo y con 5% CO₂, 5% O₂ y en atmósfera saturada de humedad. Para el aislamiento de MCI se seleccionaron blastocistos expandidos y eclosionados de días 7, 8 y 9 de cultivo con excelente calidad morfológica.

Aislamiento de MCI, aislamiento de colonias y mantenimiento del cultivo

Se utilizaron blastocistos eclosionados, y expandidos cuya zona pelúcida se eliminó por incubación en pronasa (4mg/mL). Tras un lavado en PBS con PVA (0,2 mg/mL) la MCI fue separada del trofotodermo (TE) por un procedimiento de inmunocirugía descrito por Solter y Knowles (1975), con pequeñas modificaciones. Abreviadamente, los embriones se incubaron en 50 µL de *bovine antiserum* (Sigma B 1520) durante 40 min a 37°C y 5% CO₂. Después dos lavados en PBS-PVA, los embriones se incubaron en 50 µL de *Complement Rabbit Serum* (Sigma S7764) durante 40 min a 37°C y 5% CO₂. Tras un lavado en PBS-PVA, se eliminó el TE, con ayuda de una pipeta, hasta que la MCI se desprendió del resto del embrión.

Cada MCI aislada se cultivó por separado a 37°C, 5% O₂ y 5% CO₂. El medio de cultivo consistió en 80% DMEM (Sigma D 6429) suplementado con 20% de FCS (Hyclone),

0,5 mL de Glutamina 200 mM, 0,5 mL de aminoácidos no esenciales, 0,5 mL de Penicilina-Estreptomicina, 40 ng/µL de *Fibroblast Growth Factor b* (bFGF, Sigma F 0291)) y 1000 U/µL de *Leukemia inhibitory factor* humano (LIFh, Sigma L5283). El cultivo se realizó sobre una monocapa de fibroblastos embrionarios de ratón (*mouse embryonic fibroblast*, MEF) inactivados mitóticamente, sembrados 48 horas antes del comienzo del cultivo de las MCI. El medio de cultivo se renovó 24 horas antes y 48 h después de la puesta en cultivo de las MCI. A partir de aquí, se añadió medio fresco cada 48 horas, al tiempo que se evaluaban el crecimiento de la colonia y la morfología de las células.

Tras 10-15 días de cultivo, las colonias se aislaron y cultivaron en una nueva monocapa sin variar las condiciones de cultivo. Para el aislamiento de las colonias se probaron dos métodos: disociación enzimática con Tripsina-EDTA (Sigma T3924), y aislamiento mecánico realizado con la ayuda de pipetas finas de cristal para separar, en función de su morfología, las partes de interés de la colonia.

Procedimiento de congelación/descongelación

Dos o tres grupos de células procedentes del aislamiento de una colonia se lavaron una vez en medio de cultivo y se depositaron en 90% de medio de cultivo con 10% de DMSO (Sigma D 4540) (medio de congelación). El tiempo de permanencia en el medio de congelación a temperatura ambiente se minimizó dado el carácter tóxico del DMSO. Para la congelación se utilizaron crioviales Corning (Ref 430488) con 0,5 mL de medio de congelación. El criovial se enfrió a -1°C/min hasta -80°C y se mantuvo 24 h a esta temperatura. Después, los crioviales se introdujeron en nitrógeno líquido. La descongelación se realizó sumergiendo

el criovial en un baño a 37°C. El contenido del vial se diluyó en 10 mL de medio de cultivo y se centrifugó a 300g durante 10 min. Se eliminó el sobrenadante y el sedimento de células se diluyó en 0,5 mL de medio de cultivo. De esta suspensión, se añadieron 250 µL a monocapas de MEF sembradas en pocillos (4-well; Nunc) hasta completar un volumen final de 500 µL.

Fosfatasa Alcalina

La expresión de la fosfatasa alcalina (FA; Sigma 86R) se analizó en las MCI y en las colonias. Las muestras se fijaron con metanol:formaldehído (9:1) durante 2 min. y se incubaron, durante 15 min, en la oscuridad y a temperatura ambiente con la mezcla de FA, según instrucciones del fabricante. Las colonias positivas se tiñeron de color rojizo, mientras que las negativas aparecieron mucho más tenues o sin color.

Marcadores específicos de superficie y nucleares

Los marcadores TRA-1-60, SSEA1, SSEA4 y Oct4 se detectaron por inmunofluorescencia. Las colonias se fijaron con paraformaldehído al 4% durante 20 min y se lavaron dos veces en tampón de lavado (1% BSA, 0,05% Na Azide, 0,1% Tween 20 en PBS). La permeabilización de las colonias se realizó con TritonX-100 al 0,1% en PBS durante 20 min, seguida de un lavado y una incubación de 1 h, en solución de bloqueo (5% BSA; 0,05% Na Azide en PBS). Posteriormente, las colonias se incubaron, por separado para cada uno de los marcadores, toda la noche a 4°C con los anticuerpos (Ac) primarios. Las concentraciones de Ac utilizadas fueron las siguientes: Ac monoclonales de ratón contra TRA-1-60 (IgM dilución 1:20), SSEA 1 (IgM dilución 1:10) y SSEA 4 (IgG dilución 1:30) (ES cell characterization kit, Cat

SCR001, Chemicon International) y Ac polyclonal de conejo Oct4 (IgG, 1:100; ABCAM ab18976). El Ac no unido específicamente se eliminó mediante lavados y las muestras se incubaron 1 h con el Ac secundario correspondiente: *Goat anti Mouse* IgM Cy3 (1:400, Laboratorios Jackson, 115-166-020), *Rabbit anti Mouse* IgG FITC (1:20, Dako F0261) y *Donkey anti Rabbit* IgG FITC (1:400, Laboratorios Jackson, 711-096-152). Los Ac primarios y secundarios fueron diluidos usando solución de bloqueo.

Resultados y Discusión

Con tripsina-EDTA no se consiguió una suspensión celular capaz de establecer nuevamente un cultivo estable y no diferenciado. Sin embargo, el procedimiento mecánico permitió obtener colonias que se mantuvieron creciendo indiferenciadas en algunos casos. El aislamiento mecánico ha tenido éxito en embriones producidos *in vitro* (Mitalipova y col., 2001) y en embriones producidos por clonación (Wang y col., 2005). En cambio, en el ovino la disociación enzimática ha demostrado ser el sistema de aislamiento de elección (Dattena y col., 2006).

Las colonias obtenidas presentaron una característica forma circular con una clara frontera de separación con las MEF y las células procedentes del TE residual que crecieron a su alrededor (figura 1a) tal como describieron Wang y col. (2005). Las células que integran las colonias presentan límites bien definidos (figura 1b). Esta morfología se mantuvo en los sucesivos pases de cultivo y después del ciclo de congelación-descongelación.

A mayor expresión de marcadores de pluripotencia, más alejada estará la colonia de un estado de diferenciación. La expresión de

estos marcadores no es constante dentro de una misma colonia, siendo típico encontrar un mosaico de células positivas y negativas para un mismo marcador. Aparentemente, la capacidad de las células ES para mantener su pluripotencia y, por tanto, generar un nuevo embrión completo, depende del número de pases (Nagy y col., 1990). Puesto que la pluripotencia puede desaparecer, es necesario analizar marcadores de indiferenciación a lo largo del cultivo. Las líneas celulares obtenidas en nuestro estudio expresan SSEA4, TRA-1-60 y Oct4, mientras que son negativas a SSEA1. Para el estudio de este marcador se utilizó como control positivo células madre embrionarias de ratón, que han demostrado ser SSEA1 positivas (Solter y Knowles, 1978; Resnick y col., 1992). En células ES-like bovinas, la expresión de SSEA1 es controvertida obteniéndose tanto resultados positivos (Wang y col., 2005) como negativos (Mitali-

pova y col., 2001). Mientras que Wang y col. (2005) obtuvieron colonias positivas para Oct4 y negativas para TRA-1-60, la línea ES-like producida en nuestro laboratorio fue positiva tanto para TRA-1-60 como para Oct4. En el presente trabajo, todas las MEF utilizadas carecían de expresión para los marcadores estudiados. (datos no mostrados). En la tabla 1 se presentan los resultados de la expresión de los marcadores detectados por inmunohistoquímica. La fosfatasa alcalina fue positiva en todas las colonias analizadas, tanto en fresco como después de descongeladas. Sin embargo, se ha descrito heterogeneidad en la actividad de la FA (Gjorret y Maddox, 2005; Yadav y col., 2005). La FA se expresa de forma constante en células ES de ratón (Wobus y col., 1984) y humanas (Kim y col., 2004; Stojkovic y col., 2004; Oh y col., 2005).

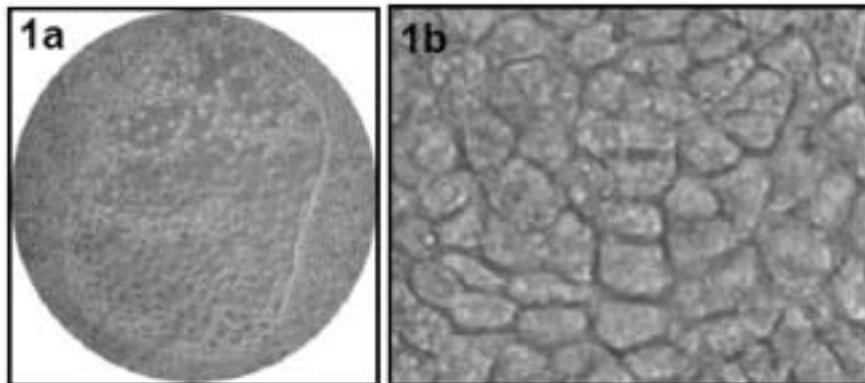


Figura 1. 1a) Figura representativa de las colonias *ES-like* obtenidas. 1b) Detalle de la morfología de las células *ES-like* mostrando la clara definición de los límites celulares de la colonia.

Figure 1. 1a) A representative *ES-like* colony. 1b) *ES-like* cell detail, showing distinguishable cell-cell boundaries.

En este trabajo se han descrito procedimientos que han permitido aislar, mantener y caracterizar colonias celulares con cualidades *ES-like* procedentes de embriones bovinos producidos por fertilización *in vitro*. Es

preciso ahora determinar la pluripotencia e inmortalidad de estas colonias celulares. Nuestros estudios futuros permitirán determinar el grado de indiferenciación de las poblaciones celulares utilizando PCR a tiem-

po real (Noaksson, y col., 2005) y cuantificar la actividad de la telomerasa. De esta enzima, las células diferenciadas presentan menor actividad que las indiferenciadas (Pericuesta y col., 2006). Es preciso además determinar la capacidad de estas células para formar los denominados cuerpos embrioides, estructuras que se diferencia-

rán de forma espontánea en las tres capas embrionarias si están básicamente formadas por células pluripotentes.

Los procedimientos empleados permitieron establecer una colonia *ES-like*, aunque los autores son conscientes de la necesidad de evaluar la pluripotencia y capacidad de autorrenovación de las células obtenidas.

Tabla 1. Análisis inmunohistoquímico de cultivos primarios, pase 2, pase 3 y las colonias formadas por los grupos celulares supervivientes a congelación-descongelación

Table 1. Immunocytochemical analysis of bovine embryonic outgrowths. Pluripotency markers detected on primary culture, passage 2, passage 3 and post-thawed colonies

Marcador	Cultivo Primario	Pase 2	Pase 3	Post-descongelación
SSEA1	-	-	-	-
SSEA4	+	+	+	+
TRA-1-60	+	+	+	+
Oct 4	+	+	+	+

Agradecimientos

Este trabajo se ha financiado parcialmente por los proyectos AGL2002-01175 y 2005-04479 y las ayudas a la realización de estancias en centros extranjeros de becas FPI del MEC en su convocatoria de 2005. El trabajo se llevó a cabo durante la estancia de Aida Rodríguez en la Universidad de Nottingham, Division of Animal Physiology, University of Nottingham. Los autores agradecen su colaboración a Division of Animal Physiology (University of Nottingham) y a sus estudiantes de doctorado.

Bibliografía

Brook FA, Gardner RL, 1997. The origin and efficient derivation of embryonic stem cell. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 5709-5712.

Clark J, Whitelaw B, 2003. A future for transgenic livestock. Nature Review 4: 825-833.

Dattena M, Chessa B, Lacerenza D, Accardo C, Pilichi S, Mara L, Chessa F, Vincenti L, Cappai P, 2006. Isolation, culture, and characterization of embryonic cell lines from vitrified sheep blastocysts. Mol. Reprod. Dev. 73(1): 31-9.

Doetschman T, Williams P, Maeda N, 1988. Establishment of hamster blastocyst-derived embryonic stem (ES) cells. Dev. Biol.; 127: 224-227.

Gjørret JO y Maddox-Hyttel P, 2005. Attempts towards derivation and establishment of bovine embryonic stem cell-like cultures. Reprod. Fertil. Dev. 17: 113-124.

Graves KH, Moreadith RW, 1993. Derivation and characterization of putative pluripotential embryonic stem cells from preimplantation rabbit embryos. Mol. Reprod. Dev. 36: 424-433.

Kim SJ, Park JH, Lee JE, Kim JM, Lee JB, Moon SY, Roh SI, Kim CG, Yoon HS, 2004. Effects of type IV collagen and laminin on the cryopreservation of human embryonic stem cells. Stem Cells. 22(6): 950-61.

- Mitalipova M, Beyhan Z, Neal LF, 2001. Pluripotency of bovine embryonic cell line derived from precompacting embryos. *Cloning* 3: 59-67.
- Nagy A, Rossant J, Nagy R, Abramow-Newerly W, Roder JC, 1990 Embryonic stem cells alone are able to support fetal development in the mouse. *Development*. 110, 815-821.
- Noaksson K, Zoric N, Zeng X, Rao MS, Hyllner J, Semb H, Kubista M, Sartipy P, 2005. Monitoring differentiation of human embryonic stem cells using Real-Time PCR. *Stem Cells*, 23: 1460-1467.
- Notarianni E, Laurie S, Moor RM, Evans MJ, 1990. Maintenance and differentiation in culture of pluripotential embryonic cell lines from pig blastocysts. *J. Reprod. Fertil. suppl.* 41: 51-56.
- Notarianni E, Galli C, Laurie S, Moor RM, Evans MJ, 1991. Derivation of pluripotent, embryonic cell lines from the pig and sheep. *J. Reprod. Fertil.* 43: 255-260.
- Oh SK, Kim HS, Ahn HJ, Seol HW, Kim YY, Park YB, Yoon CJ, Kim DW, Kim SH, Moon SY, 2005. Derivation and characterization of new human embryonic stem cell lines: SNUhES1, SNUhES2, and SNUhES3. *Stem Cells*. Feb; 23(2): 211-9.
- Pera MF, Reubinoff B, Trounson A, 2000. Human embryonic stem cells. *Journal of Cell Science*, 113: 5-10.
- Pericuesta E, Ramirez MA, Villa-Diaz A, Relanogines A, Torres JM, Nieto M, Pintado B, Gutierrez-Adan A, 2006. The proximal promoter region of mTert is sufficient to regulate telomerase activity in ES cells and transgenic animals. *Reprod. Biol. Endocrinol.* Feb 3; 4:5.
- Resnick J, Bixler LS, Cheng L, Donovan PJ, 1992. Long-term proliferation of mouse primordial germ cells in culture. *Nature* 359: 550-551.
- Solter D, Knowles BB. 1975. Immunosurgery of mouse blastocyst. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72: 5099-5102.
- Solter D, Knowles BB, 1978. Monoclonal antibody defining a stage specific mouse embryonic antigen (SSEA-1). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75: 5565-5569.
- Stice SL, Strelchenko NS, Keefer CL, Matthews L, 1996. Pluripotent bovine embryonic cell lines direct embryonic development following nuclear transfer. *Biol Reprod.* 54: 100-110.
- Stojkovic M, Lako M, Stojkovic P, Stewart R, Przyborski S, Armstrong L, Evans J, Herbert M, Hyslop L, Ahmad S, Murdoch A, Strachan T, 2004. Derivation of human embryonic stem cells from day-8 blastocysts recovered after three-step in vitro culture. *Stem Cells*. 22(5): 790-797.
- Sukoyan MA, Vatolin SY, Golubitsa AN, Zhelezova AI, Semenova LA, Serov OL, 1993. Embryonic stem cells derived from morulae, inner cell mass, and blastocysts of mink: comparisons of their pluripotencies. *Mol. Reprod. Dev.*; 36: 148-158.
- Thomson JA, Kalishman J, Golos TG, Durning M, Harris CP, Becker RA, Hearn JP, 1995. Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; 92: 7844-7848.
- Thomson JA, Kalishman J, Golos TG, Durning M, Harris CP, Hearn JP, 1996. Pluripotent cell lines derived from common marmoset (*Callithrix jacchus*) blastocysts. *Biol. Reprod.* 55: 254-259.
- Thomson JA, Itskovotzeldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM, 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282: 1145-1147
- Wang L, Duan E, Sung L, Jeong B, Yang X, Tian XC, 2005. Generation and characterization of pluripotent stem cells from cloned bovine embryos. *Biol Reprod.* 73, 149-155.
- Wobus AM, Holzhausen H, Jakel P, Schoneich J, 1984. Characterization of a pluripotent stem cell line derived from a mouse embryo. *Exp. Cell. Res.* 152(1): 212-9.
- Yadav P, Kues W, Herrmann D, Carnwath J, Niemann H, 2005. Bovine ICM derived cells express the Oct4 Ortholog. *Mol. Reprod. Develop.* 72(2): 182-190.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Análisis de estimadores basados en información molecular para inferir el parentesco genealógico

S.T. Rodríguez-Ramilo*, M.A. Toro*, A. Caballero**, J. Fernández*

* Departamento de Mejora Genética Animal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). Ctra. A Coruña Km. 7,5. 28040 Madrid, Spain.

** Departamento de Bioquímica, Genética e Inmunología. Edificio de Ciencias Experimentales. Campus Universitario. Universidad de Vigo. 36310 Vigo, Spain.

Enviar correspondencia a: Silvia Teresa Rodríguez Ramilo. Departamento de Mejora Genética Animal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). Ctra. A Coruña Km. 7,5 28040 Madrid (Spain). Teléfono: +34913473759. Fax: +34913572293. E-mail: ramilo@inia.es.

Resumen

Muchas poblaciones en cautividad y la mayoría de las poblaciones naturales no disponen de información genealógica. Debido a ello se han desarrollado numerosos estimadores del parentesco a partir de la información proporcionada por marcadores neutros moleculares. En este trabajo realizamos simulaciones para comprobar en qué situaciones dos estimadores del parentesco permiten obtener estimas precisas del parentesco genealógico. Para ello simulamos 10 o 100 marcadores moleculares neutros codominantes con seis posibles alelos, junto con 120 loci, aditivos y bialélicos, con efecto sobre un carácter cuantitativo. Se consideró un censo de 50 o 500 individuos en dos escenarios poblacionales: (1) la población no disponía de una estructura familiar, ya que los individuos se apareaban y contribuían a la siguiente generación de forma libre y aleatoria; (2) la población estaba estructurada en 5 o 50 familias con contribuciones iguales de cada familia a la siguiente generación (10 descendientes por familia), siendo la elección de los progenitores, o bien aleatoria, o bien dependiente de su valor fenotípico. Los resultados no aportan evidencias de un comportamiento satisfactorio de los estimadores de parentesco analizados, aunque se observa una mejora cuando se dispone de 100 marcadores. Los estimadores parecen ser más adecuados para inferir parentesco que consanguinidad, y su precisión depende de la varianza o dispersión de los valores del parentesco genealógico. Finalmente, se deduce que, a efectos de comparación y ordenación de los parentescos, el parentesco molecular resulta igualmente efectivo que cualquiera de los estimadores estudiados.

Palabras clave: parentesco, marcador molecular, consanguinidad

Summary

Analysis of estimators based on molecular information to infer genealogical coancestry

Many captive populations and most natural ones lack genealogical information. In this situation, several coancestry estimators have been proposed to infer coancestry from molecular markers. In this study we carried out simulations to test in which situations two analyzed coancestry *pairwise* estimators produce accurate estimates of the genealogical coancestry. We simulated 10 or 100 codominant neutral markers with six potential alleles, as well as 120 additive, biallelic loci controlling a quantitative trait. Simulations involved census sizes of 50 or 500 individuals in two different population scenarios: (1) populations with no family structure, where contributions of parents to progeny are free and mating is at random; (2) populations with a familiar structure, where 5 or 50 families are obtained through equal contributions of parents to the next generation (10 offspring per family), and parents of each family are chosen at random or depending on their phenotypic value. Our results provide no

evidence to suggest a satisfactory behaviour of the analyzed coancestry estimators, although it improves when 100 markers are available. The estimators are likely to be more suitable to infer coancestry than inbreeding, and their accuracy depends on the variance and dispersion of the genealogical coancestry values. Finally, we deduce that molecular coancestry is as effective as the analyzed estimators in order to compare and sort the coancestries.

Key words: coancestry, molecular marker, inbreeding

Introducción

El conocimiento de las relaciones de parentesco entre los individuos que integran una población es trascendental en numerosas áreas de la biología y de la genética de poblaciones. Por ejemplo, es necesario para estimar parámetros genéticos como heredabilidades y correlaciones genéticas (Ritland, 1996a y 2000) y valores mejorantes (Lynch y Walsh, 1998), sirve de criterio para el manejo de poblaciones con el objetivo de evitar la pérdida de diversidad y el incremento de la consanguinidad (Caballero y Toro, 2000 y 2002) y, finalmente, permite el estudio de sistemas de apareamiento, cuidado parental, dispersión y otros parámetros en ecología o biología del comportamiento (Awise, 1994; Frankham et al., 2002). Habitualmente, el parentesco se calcula a partir de la información genealógica. Sin embargo, la mayoría de las poblaciones naturales y muchas poblaciones en cautividad no disponen de dicha información.

Durante los últimos años, el desarrollo y aplicación de marcadores moleculares altamente polimórficos (especialmente los microsatélites) ha sido enormemente útil, particularmente en genética de poblaciones y conservación (Awise, 1994; Frankham et al., 2002), debido a su capacidad para inferir las relaciones entre individuos cuando parte o la totalidad de la genealogía poblacional no está disponible. Consecuentemente, se han desarrollado numerosos estimadores de parentesco para evaluar el grado de relación entre individuos empleando la infor-

mación molecular proporcionada por los distintos tipos de marcadores. Una descripción de la mayoría de estos estimadores puede encontrarse en Toro et al. (2002) y Fernández y Toro (2006), pudiendo clasificarse en aquéllos que estiman parentescos de parejas de individuos (métodos *pairwise*) y aquéllos basados en la reconstrucción explícita de la genealogía.

En el presente artículo presentamos un estudio de simulación cuyo objetivo es evaluar el sesgo y precisión de dos estimadores de parentesco genealógico de parejas de individuos basados en información molecular.

Métodos y simulaciones

Parentescos calculados

Parentesco genealógico: Las relaciones genéticas entre individuos se pueden obtener mediante el coeficiente de parentesco de Malécot (1948) calculado a partir de las genealogías. El coeficiente de parentesco entre los individuos i y j ($f_{g,ij}$) se define como la probabilidad de que un alelo elegido al azar del individuo i sea idéntico por descendencia a uno elegido al azar del individuo j .

Parentesco molecular: De forma análoga, también es posible definir el parentesco molecular aplicando la definición de Malécot (1948) a loci marcadores. El parentesco molecular entre dos individuos i y j ($f_{M,ij}$) es la probabilidad de que dos alelos elegidos al azar, uno de cada individuo, sean iguales (idénti-

cos en estado). Esta probabilidad puede calcularse para cada alelo l del locus k ($f_{M,ijkl}$) y sumarse para todos los alelos $f_{M,ijk}$. Considerando k marcadores, el parentesco molecular estimado será la media aritmética de los valores obtenidos con cada uno de ellos.

Estimadores del parentesco: Con objeto de aproximar la información proporcionada mediante la identidad en estado a la identidad por descendencia, se han propuesto estimadores que intentan corregir el parentesco molecular mediante el uso de las frecuencias alélicas de la población actual. En este estudio se consideraron dos de estos estimadores:

1. Estimador de Ritland (1996b):

$$\hat{f}_{R0} = \frac{\sum_k \sum_l \frac{f_{M,kl} - p_{kl}^2}{p_{kl}}}{\sum_k (n_k - 1)},$$

donde p_{kl} es la frecuencia del alelo l del locus k , n_k es el número de alelos del locus k y L es el número de loci marcadores. Este estimador asume que la correlación entre las estimas de diferentes loci es cero, por lo que el factor de ponderación de cada locus es $(n_k - 1)$.

Ritland (1996a y 2000) indicó que una manera más correcta de estimar la varianza de los parentescos era la varianza actual, la cual refiere a la varianza que queda una vez eliminada la varianza muestral. La varianza actual del parentesco se estima como

$$\text{var}(\text{act.}) = \frac{1}{M} \sum_k \left[\frac{\left(\sum_l w_k \hat{f}_{R0,kl} \right)^2 - \sum_l w_k^2 \hat{f}_{R0,kl}^2}{1 - \sum_l w_k^2} \right] - \hat{f}_R^2,$$

donde \hat{f}_R es el parentesco estimado promedio de la población (sobre las M parejas de individuos posibles) y w_k es la ponderación específica del locus k , estimada como

$$w_k = \frac{n_k - 1}{\sum_k (n_k - 1)}.$$

2. Estimador de Li y Horvitz (1953):

$$\hat{f}_{LH0} = \frac{\sum_k \frac{f_{M,kl} - \sum_l p_{kl}^2}{1 - \sum_l p_{kl}^2}}{L}$$

Simulaciones

Marcadores: Se simularon 10 o 100 marcadores moleculares neutros y codominantes con seis alelos equiprobables en cada marcador, en equilibrio de Hardy-Weinberg y de ligamiento, permitiéndose recombinación libre entre los mismos.

Carácter: Se simuló un carácter cuantitativo controlado por 120 loci bialélicos, de manera que las frecuencias alélicas eran $p = q = 0,5$ y todos los loci se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg y de ligamiento, con recombinación libre. Para cada locus, los valores genotípicos fueron 5,0, 3,5 y 2,0 para los genotipos AA, Aa y aa, respectivamente. El valor genotípico de un individuo se obtuvo como la suma de los valores genotípicos de todos los loci. El valor fenotípico de los individuos se obtenía a partir de la suma del valor genotípico y un valor ambiental muestreado al azar de una distribución normal con media cero y varianza tal que la heredabilidad inicial del carácter fuera $h^2 = 0,50$.

Estructura poblacional: Se consideraron dos censos poblacionales ($N = 50$ o 500) con el mismo número de machos y hembras, sin fluctuaciones durante 10 generaciones discretas y para dos escenarios posibles. La Figura 1 muestra el procedimiento seguido para desarrollar el esquema en todas las situaciones poblacionales consideradas. En el primer escenario, la población no presentaba estructura familiar, por lo que las contribuciones de los progenitores a la descendencia eran libres y el apareamiento aleatorio. En el segundo escenario, las poblaciones presenta-

ban una estructura familiar, compuesta por 5 o 50 familias de hermanos (dependiendo del censo poblacional) con 10 individuos por familia. Los progenitores de cada familia eran elegidos al azar o seleccionados los de mayor valor fenotípico. En el caso de poblaciones estructuradas, el apareamiento era aleatorio o asociativo según su parentesco genealógico, de manera que se apareaban los progenitores más relacionados. El objetivo de este procedimiento era forzar una mayor varianza entre los parentescos de los individuos de la población.

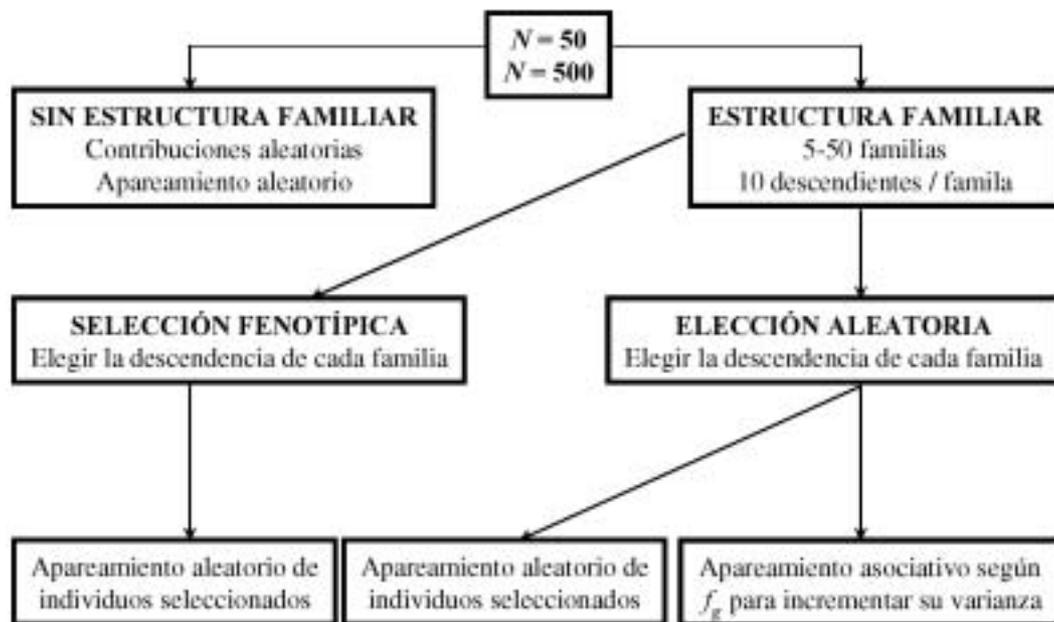


Figura 1. Procedimiento seguido para diseñar los distintos escenarios poblacionales en los que se evaluó el parentesco. f_g : parentesco genealógico.

Figure 1. Procedure followed to design the different population scenarios where the coancestry was evaluated. f_g : genealogical coancestry.

Parámetros evaluados: Para cada población analizada se calculó la media y la varianza del parentesco genealógico, el parentesco molecular y los estimadores de Ritland (1996b) y Li y Horvitz (1953), así como el promedio de la varianza actual descrita por

Ritland (1996a y 2000). La precisión de los estimadores se evaluó mediante los parámetros de la regresión y el coeficiente de determinación entre cada uno de los estimadores y el parentesco genealógico. Los cálculos se realizaron por separado para los

parentescos entre individuos (ij) y para los autoparentescos (ii), ya que estos últimos representan una estima de la consanguinidad de la población mediante la ecuación $F_i = 2 f_{ii} - 1$. Cada escenario se simuló 100 veces y los valores de los parámetros se promediaron entre simulaciones.

Resultados y discusión

En la tabla 1 se muestra, para cada población analizada, el promedio y la varianza de los parentescos genealógico, molecular y estimados mediante los métodos de Ritland (1996b) y Li y Horvitz (1953), así como el promedio de la varianza actual descrita por Ritland (1996a y 2000). Como es lógico, el parentesco molecular promedio presentó valores superiores al genealógico en todos los casos, ya que mide identidad en estado. El parentesco promedio de los dos estimadores analizados fue prácticamente nulo, tanto a corto como a largo plazo, lo que provoca un incremento en el sesgo de los estimadores a largo plazo debido al incremento continuado del parentesco genealógico promedio. Esta situación se debe al hecho de que las frecuencias iniciales se estimaron a partir de la propia población, provocando subestimas. Por esta razón se ha sugerido que los valores absolutos de las estimas de parentesco obtenidas únicamente pueden emplearse para clasificar el parentesco entre las parejas de individuos en términos relativos (Toro *et al.*, 2002).

Con respecto a las varianzas de los parentescos, se observaron valores mayores para el parentesco molecular y los dos estimadores que para el parentesco genealógico. En el caso en el que se disponía de 100 marcadores la varianza media del parentesco molecular se redujo, adquiriendo valores similares a la varianza media del parentesco genealógico. Para los dos estimadores anali-

zados también se observó ligeramente esta reducción, siendo más acusada en poblaciones con censo $N = 500$ sin estructura familiar. Exceptuando el caso de poblaciones estructuradas y un censo reducido a largo plazo, es importante señalar la similitud entre la varianza genealógica media y el promedio de la varianza actual, lo cual tiene implicaciones a la hora de aplicar el estimador de heredabilidad propuesto por Ritland (1996a y 2000).

La tabla 2 es equivalente a la tabla 1 pero referida a los valores de consanguinidad. De la misma manera que ocurría con el parentesco entre individuos, el coeficiente de consanguinidad molecular promedio presentó valores superiores al genealógico en todos los casos, mientras que la media para los dos estimadores analizados fue ligeramente inferior al valor real en todos los casos, excepto a corto plazo en poblaciones con $N = 500$. Empleando 100 marcadores se redujeron las varianzas medias del coeficiente de consanguinidad, sobre todo en el caso del coeficiente de consanguinidad molecular, pero sin alcanzar a la del genealógico. Esta leve reducción de varianza promedio en los dos estimadores analizados fue más acusada en poblaciones con censo $N = 500$ y sin estructura familiar.

En la tabla 3 se muestra el promedio del coeficiente de determinación, la pendiente de regresión y el intercepto, entre el parentesco genealógico y los estimadores. Los valores de pendiente de regresión e intercepto correspondientes a la situación ideal son $b = 1,00$ y $a = 0,00$, respectivamente. También se muestran los anteriores coeficientes para el parentesco molecular y el genealógico. En cuanto al coeficiente de determinación, en el caso de 100 marcadores se encontraron mayores valores que cuando se disponía únicamente de 10 marcadores. Si la población tenía una estructura familiar y se realizaba apareamiento aleatorio de los progenitores

seleccionados al azar, se obtenían mayores valores (tanto a corto como a largo plazo y con 10 y 100 marcadores) que si la población carecía de estructura familiar. Este hecho

probablemente sea debido a la menor varianza genealógica promedio en los casos en los que no existía una estructura familiar (véase la tabla 1).

Tabla 1. Media y varianza ($\times 10^2$) del parentesco genealógico (f_g), molecular (f_M), Ritland (f_R) (1996b), y Li y Horvitz (f_{LH}) (1953) y la varianza actual (act.) propuesta por Ritland (1996a y 2000) en las generaciones (t) 1 y 10; (1) y (2) población con $N = 50$; (3), (4), (5) y (6) $N = 500$; (1) y (3) población sin estructura familiar; (2), (4) y (5) población con estructura familiar y padres elegidos al azar; (6) población con estructura familiar y padres seleccionados según su valor fenotípico; (5) apareamiento asociativo de individuos según su parentesco genealógico

Table 1. Mean and variance ($\times 10^2$) of genealogical coancestry (f_g), molecular (f_M), Ritland (f_R) (1996b), and Li and Horvitz (f_{LH}) (1953) and the actual (act.) variance proposed by Ritland (1996a and 2000) at generations (t) 1 and 10; (1) and (2) population of $N = 50$; (3), (4), (5) and (6) $N = 500$; (1) and (3) population with no family structure; (2), (4) and (5) population with a family structure and parents selected at random; (6) population with a family structure and parents selected according to their phenotypic value; (5) assortative mating according to the genealogical coancestry

Marcadores	Escenario	t	f_g	f_M	f_R	f_{LH}	$V(f_g)$	$V(f_M)$	$V(f_R)$	$V(f_{LH})$	$V(act.)$
10	1	1	0,01	0,18	-0,01	-0,01	0,12	0,44	0,56	0,66	0,11
		10	0,09	0,25	-0,01	-0,01	0,13	0,60	0,58	1,14	0,13
	2	1	0,05	0,21	-0,01	-0,01	0,94	1,02	1,36	1,65	0,96
		10	0,34	0,44	-0,01	-0,01	0,40	0,88	1,73	1,92	0,87
	3	1	0,00	0,17	0,00	0,00	0,01	0,36	0,51	0,51	0,01
		10	0,01	0,18	0,00	0,00	0,01	0,36	0,51	0,51	0,02
	4	1	0,01	0,17	0,00	0,00	0,11	0,42	0,60	0,62	0,11
		10	0,04	0,20	0,00	0,00	0,13	0,51	0,62	0,81	0,14
	5	1	0,01	0,17	0,00	0,00	0,11	0,42	0,60	0,62	0,11
		10	0,05	0,20	0,00	0,00	0,27	0,65	0,78	1,03	0,27
	6	1	0,01	0,17	0,00	0,00	0,11	0,43	0,60	0,62	0,11
		10	0,07	0,22	0,00	0,00	0,14	0,56	0,63	0,94	0,14
100	1	1	0,01	0,18	-0,01	-0,01	0,12	0,12	0,15	0,18	0,11
		10	0,09	0,25	-0,01	-0,01	0,13	0,14	0,17	0,26	0,12
	2	1	0,05	0,21	-0,01	-0,01	0,94	0,69	1,00	1,11	0,96
		10	0,34	0,45	-0,01	-0,01	0,39	0,34	0,93	0,98	0,84
	3	1	0,00	0,17	0,00	0,00	0,01	0,04	0,06	0,06	0,01
		10	0,01	0,18	0,00	0,00	0,01	0,04	0,07	0,06	0,02
	4	1	0,01	0,17	0,00	0,00	0,11	0,11	0,16	0,16	0,11
		10	0,04	0,20	0,00	0,00	0,13	0,13	0,19	0,21	0,14
	5	1	0,01	0,17	0,00	0,00	0,11	0,11	0,16	0,16	0,11
		10	0,05	0,20	0,00	0,00	0,26	0,23	0,31	0,37	0,26
	6	1	0,01	0,17	0,00	0,00	0,11	0,11	0,16	0,16	0,11
		10	0,07	0,22	0,00	0,00	0,13	0,14	0,19	0,23	0,14

Tabla 2. Media y varianza ($\times 10^2$) del coeficiente de consanguinidad genealógico (F_g), molecular (F_M), Ritland (F_R) (1996b), y Li y Horvitz (F_{LH}) (1953) en las generaciones (t) 1 y 10; (1) y (2) población con $N = 50$; (3), (4), (5) y (6) $N = 500$; (1) y (3) población sin estructura familiar; (2), (4) y (5) población con estructura familiar y padres elegidos al azar; (6) población con estructura familiar y padres seleccionados según su valor fenotípico; (5) apareamiento asociativo de individuos según su parentesco genealógico

Table 2. Mean and variance ($\times 10^2$) of the genealogical inbreeding coefficient (F_g), molecular (F_M), Ritland (F_R) (1996b), and Li and Horvitz (F_{LH}) (1953) at generations (t) 1 and 10; (1) and (2) population of $N = 50$; (3), (4), (5) and (6) $N = 500$; (1) and (3) population with no family structure; (2), (4) and (5) population with a family structure and parents selected at random; (6) population with a family structure and parents selected according to their phenotypic value; (5) assortative mating according to the genealogical coancestry

Marcadores	Escenario	t	F_g	F_M	F_R	F_{LH}	$V(F_g)$	$V(F_M)$	$V(F_R)$	$V(F_{LH})$	
10	1	1	0,00	0,16	-0,02	-0,02	0,00	1,36	2,80	2,04	
		10	0,08	0,24	-0,02	-0,02	0,12	1,84	10,24	3,48	
	2	1	0,00	0,16	-0,06	-0,06	0,00	1,28	3,52	2,08	
		10	0,30	0,40	-0,08	-0,08	0,12	2,08	10,04	3,56	
	3	1	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	1,40	2,04	2,00	
		10	0,02	0,18	0,00	0,00	0,00	1,40	2,04	2,00	
	4	1	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	1,36	2,12	2,00	
		10	0,04	0,20	0,00	0,00	0,04	1,56	5,04	2,48	
	5	1	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	1,36	2,12	1,96	
		10	0,08	0,24	0,04	0,04	0,28	1,96	6,44	3,16	
	6	1	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	1,40	2,16	2,00	
		10	0,06	0,22	0,00	0,00	0,04	1,72	7,76	2,88	
	100	1	1	0,00	0,16	-0,02	-0,02	0,00	0,12	0,44	0,20
			10	0,08	0,24	-0,02	-0,02	0,12	0,24	1,60	0,48
		2	1	0,00	0,16	-0,06	-0,06	0,00	0,12	0,36	0,20
			10	0,28	0,40	-0,08	-0,08	0,12	0,28	1,88	0,84
		3	1	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,12	0,20	0,20
			10	0,02	0,18	0,00	0,00	0,00	0,12	0,20	0,20
4		1	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,12	0,20	0,20	
		10	0,04	0,20	0,00	0,00	0,04	0,16	0,60	0,28	
5		1	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,12	0,20	0,20	
		10	0,08	0,24	0,04	0,04	0,28	0,36	1,12	0,56	
6		1	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,12	0,20	0,20	
		10	0,06	0,22	0,00	-0,02	0,04	0,20	1,12	0,32	

Las diferencias entre los coeficientes de determinación calculados fueron mínimas, apreciándose una ligera superioridad en el caso del estimador de Ritland (1996b). Los valores fueron exactamente iguales entre los coeficientes de determinación molecular y del estimador de Li y Horvitz (1953) en

todos los casos analizados excepto en el caso de poblaciones estructuradas de censo poblacional reducido a largo plazo, en las que el cambio en las frecuencias alélicas es más fácilmente detectable debido al censo efectivo reducido que presenta esta situación poblacional. Los coeficientes de deter-

minación permanecieron, en general, constantes a lo largo del tiempo excepto para los casos de poblaciones con censo reducido, con estructura familiar y apareamiento aleatorio de los individuos seleccionados al azar, en los que se redujo con el paso de las generaciones, y los de poblaciones con censo elevado, con estructura familiar y apareamiento atendiendo al parentesco

genealógico de los individuos seleccionados al azar, en los que se observó un aumento. La razón podría ser que, en el primer escenario poblacional se reduce la varianza promedio del parentesco genealógico debido al reducido censo. Por el contrario, en el segundo caso la varianza se incrementa con el paso de las generaciones (véase la tabla 1).

Tabla 3. Coeficiente de determinación (r^2), pendiente (b) e intercepto (a) de la regresión del parentesco genealógico dado el parentesco molecular y los estimadores de Ritland (1996b), y de Li y Horvitz (1953) en las generaciones (t) 1 y 10; (1) y (2) población con $N = 50$; (3), (4), (5) y (6) $N = 500$; (1) y (3) población sin estructura familiar; (2), (4) y (5) población con estructura familiar y padres elegidos al azar; (6) población con estructura familiar y padres seleccionados según su valor fenotípico; (5) apareamiento asociativo de individuos según su parentesco genealógico

Table 3. Coefficient of determination (r^2), coefficient (b) and intercept (a) of regression of the genealogical coancestry given the molecular coancestry, Ritland (1996b), and Li and Horvitz (1953) at generations (t) 1 and 10; (1) and (2) population of $N = 50$; (3), (4), (5) and (6) $N = 500$; (1) and (3) population with no family structure; (2), (4) and (5) population with a family structure and parents selected at random; (6) population with a family structure and parents selected according to their phenotypic value; (5) assortative mating according to the genealogical coancestry

Marcadores	Escenario	t	r^2_{gM}	r^2_{gR}	r^2_{gLH}	b_{gM}	b_{gr}	b_{gLH}	a_{gM}	a_{gR}	a_{gLH}	
10	1	1	0,19	0,19	0,19	0,23	0,20	0,19	-0,03	0,01	0,01	
		10	0,16	0,21	0,15	0,19	0,22	0,13	0,05	0,10	0,10	
	2	1	0,64	0,72	0,64	0,77	0,71	0,61	-0,11	0,05	0,05	
		10	0,34	0,48	0,33	0,39	0,33	0,31	0,17	0,34	0,33	
	3	1	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,00	0,00	0,00	
		10	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,00	0,01	0,01	
	4	1	0,18	0,19	0,18	0,22	0,19	0,18	-0,03	0,00	0,00	
		10	0,18	0,22	0,18	0,21	0,22	0,17	0,00	0,04	0,04	
	5	1	0,18	0,19	0,18	0,22	0,19	0,18	-0,03	0,00	0,00	
		10	0,29	0,32	0,29	0,35	0,34	0,27	-0,03	0,05	0,05	
	6	1	0,18	0,19	0,18	0,22	0,19	0,18	-0,03	0,00	0,00	
		10	0,17	0,22	0,17	0,21	0,22	0,16	0,02	0,07	0,07	
	100	1	1	0,70	0,69	0,70	0,84	0,73	0,69	-0,14	0,02	0,02
			10	0,64	0,69	0,63	0,78	0,73	0,57	-0,10	0,10	0,10
		2	1	0,95	0,96	0,95	1,14	0,95	0,90	-0,19	0,06	0,05
			10	0,82	0,86	0,81	0,98	0,60	0,57	-0,10	0,34	0,33
		3	1	0,20	0,20	0,20	0,24	0,20	0,20	-0,04	0,00	0,00
			10	0,24	0,25	0,24	0,28	0,25	0,23	-0,04	0,01	0,01
4		1	0,69	0,70	0,69	0,83	0,69	0,68	-0,14	0,01	0,01	
		10	0,69	0,73	0,68	0,82	0,72	0,65	-0,12	0,04	0,04	
5		1	0,69	0,70	0,69	0,82	0,69	0,68	-0,14	0,01	0,01	
		10	0,80	0,81	0,80	0,96	0,83	0,76	-0,15	0,05	0,05	
6		1	0,69	0,70	0,69	0,83	0,69	0,68	-0,14	0,01	0,01	
		10	0,67	0,71	0,67	0,81	0,71	0,62	-0,11	0,07	0,07	

El comportamiento de la pendiente de regresión, en general, fue muy similar al del coeficiente de determinación. En cuanto al intercepto, nótese que el parentesco molecular produjo valores inferiores, que se hacen más importantes al incrementar el número de marcadores, indicando el exceso que supone la identidad en estado. Sin embargo, los estimadores de parentesco presentan valores de intercepto próximos a cero indicando una mayor precisión, excepto en el escenario poblacional de una población con censo reducido, estructura familiar y apareamiento aleatorio de los individuos elegidos al azar, probablemente debido a la reducción en la varianza promedio del parentesco genealógico (véase la tabla 1).

La tabla 4 es equivalente a la tabla 3 pero referida a los valores de consanguinidad.

Solamente se presentan los valores obtenidos en la generación 10, debido a que en la generación 1 no había individuos consanguíneos ($F = 0,00$). Los valores obtenidos del coeficiente de determinación fueron inferiores a los obtenidos con el parentesco (véase la tabla 3) y muy bajos incluso cuando se dispone de 100 marcadores. Los valores de r^2 fueron especialmente reducidos en el caso del estimador de Ritland (1996b). Las estimas de la pendiente de regresión presentaron valores muy reducidos, incluso próximos a cero, aunque mejoraron ligeramente en el caso de disponer de 100 marcadores. Las estimas del intercepto presentaron valores muy próximos a cero, probablemente debido a la reducida variación que se genera en los parentescos genealógicos (especialmente con $N = 500$).

Tabla 4. Coeficiente de determinación (r^2), pendiente (b) e intercepto (a) de la regresión del coeficiente de consanguinidad genealógico dada la consanguinidad molecular y los estimadores de Ritland (1996b), y Li y Horvitz (1953) en la generación (t) 10; (1) y (2) población con $N = 50$; (3), (4), (5) y (6) $N = 500$; (1) y (3) población sin estructura familiar; (2), (4) y (5) población con estructura familiar y padres elegidos al azar; (6) población con estructura familiar y padres seleccionados según su valor fenotípico; (5) apareamiento asociativo de individuos según su parentesco genealógico

Table 4. Coefficient of determination (r^2), coefficient (b) and intercept (a) of regression of the genealogical inbreeding coefficient given the molecular inbreeding, Ritland (1996b), and Li and Horvitz (1953) at generation (t) 10; (1) and (2) population of $N = 50$; (3), (4), (5) and (6) $N = 500$; (1) and (3) population with no family structure; (2), (4) and (5) population with a family structure and parents selected at random; (6) population with a family structure and parents selected according to their phenotypic value; (5) assortative mating according to the genealogical coancestry

Marcadores	Escenario	t	r^2_{gM}	r^2_{gR}	r^2_{gLH}	b_{gM}	b_{gR}	b_{gLH}	a_{gM}	a_{gR}	a_{gLH}
10	1	10	0,08	0,03	0,08	0,06	0,01	0,05	0,06	0,09	0,09
	2	10	0,11	0,09	0,11	0,04	0,00	0,03	0,28	0,30	0,29
	3	10	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	4	10	0,02	0,01	0,02	0,02	0,00	0,01	0,04	0,04	0,03
	5	10	0,10	0,05	0,10	0,11	0,04	0,09	0,05	0,08	0,09
	6	10	0,03	0,02	0,03	0,03	0,00	0,02	0,05	0,06	0,06
100	1	10	0,33	0,06	0,32	0,40	0,06	0,29	-0,02	0,08	0,09
	2	10	0,27	0,22	0,27	0,28	0,02	0,13	0,16	0,30	0,03
	3	10	0,07	0,06	0,07	0,08	0,06	0,07	0,00	0,00	0,01
	4	10	0,13	0,04	0,13	0,15	0,03	0,12	0,01	0,03	0,04
	5	10	0,49	0,19	0,49	0,59	0,20	0,47	-0,07	0,08	0,07
	6	10	0,16	0,02	0,16	0,19	0,00	0,15	0,01	0,06	0,07

Conclusiones

En este estudio hemos analizado el comportamiento de dos estimadores de parentesco genealógico en situaciones en las que se dispone de 10 o 100 marcadores. Sin embargo, en el desarrollo de estudios experimentales es habitual que el número de marcadores analizados sea próximo a 10 y, en cualquier caso, muy alejado de la situación hipotética de 100 marcadores, aunque es posible que este número se vea incrementado a medida que se abaraten las técnicas de obtención de información molecular. Nuestros resultados no proporcionan evidencias de un comportamiento adecuado de los estimadores de parentesco genealógico analizados, aunque mejora en el caso hipotético de que se disponga de un número considerable de marcadores. El factor crítico del que depende la precisión de los estimadores es la varianza o dispersión de los valores del parentesco genealógico. Por ello el comportamiento de los estimadores mejora en poblaciones que poseen un elevado censo poblacional y una estructura familiar definida. Los estimadores analizados serían más adecuados para inferir parentesco (10 marcadores r^2 0,02 – 0,72; 100 marcadores r^2 0,20 – 0,96) que consanguinidad (10 marcadores r^2 0,01 – 0,11; 100 marcadores r^2 0,07 – 0,49) y, concretamente, nuestros resultados descartan al estimador propuesto por Ritland (1996b) para inferir consanguinidad, debido al reducido coeficiente de determinación que presenta. Finalmente, hay que resaltar que, a efectos de comparación y ordenación de los parentescos, los resultados indican que resulta igualmente efectivo el parentesco molecular que cualquiera de los estimadores estudiados, debido al análogo coeficiente de determinación que presentan.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado mediante el proyecto Plan Estratégico del INIA (CPE03-004-C2).

Bibliografía

- Avice JC, 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall, New York, USA.
- Caballero A, Toro MA, 2000. Interrelations between effective population size and other pedigree tools for the management of conserved populations. *Genet. Res.* 75: 331-343.
- Caballero A, Toro MA, 2002. Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. *Conserv. Genet.* 3: 289-299.
- Fernández J, Toro MA, 2006. A new method to estimate relatedness from molecular markers. *Mol. Ecol.* 15: 1657-1667.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA, 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- Li CC, Horvitz DG, 1953. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. *Am. J. Hum. Genet.* 5: 107-117.
- Lynch M, Walsh B, 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts, USA.
- Malécot G, 1948. *Les Mathématiques de l'hérédité*. Masson et. Cie., Paris, Francia.
- Ritland K, 1996a. A marker-based method for inferences about quantitative inheritance in natural populations. *Evolution* 50: 1062-1073.
- Ritland K, 1996b. Estimators for pairwise relatedness and individual inbreeding coefficients. *Genet. Res.* 67: 175-186.
- Ritland K, 2000. Marker-inferred relatedness as a tool for detecting heritability in nature. *Mol. Ecol.* 9: 1195-1204.

Toro MA, Barragán C, Óvilo C, Rodrigáñez J, Rodríguez C, Silió L, 2002. Estimation of coancestry in Iberian pigs using molecular markers. *Conserv. Genet.* 3: 309-320. (Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Factores extrínsecos que condicionan las evaluaciones de los jueces en los concursos morfofuncionales de caballos de Pura Raza Española

M.D. Gómez*, I. Cervantes*, J.A. Gessa**, A. Horcada**, A. Molina*, M. Valera**

* Dpto. Genética. Universidad de Córdoba. E-mail: agr158equinos@gmail.com

** Dpto. Ciencias Agro-forestales. Universidad de Sevilla.

Resumen

El caballo de Pura Raza Española (PRE) es la raza equina más importante de España desde el punto de vista censal, histórico y socio-económico. Aunque su Esquema de Selección contempla la valoración de los animales según su rendimiento deportivo, la conformación y el temperamento, tradicionalmente ha sido seleccionado por su morfología y su aptitud para la silla en concursos morfofuncionales.

En estos concursos, los caballos de PRE agrupados en función de su sexo y edad, son evaluados subjetivamente, generalmente por 3 jueces de forma independiente.

Estos jueces emiten puntuaciones sobre caracteres morfológicos (8), de movimientos (2) y funcionales (3, únicamente se emiten para los machos mayores de tres años), utilizando una escala numérica de 1 (muy malo) a 10 (muy bueno), con incrementos de 0,5 puntos. Para este estudio las puntuaciones se han combinado en tres notas globales por juez (morfológica, movimientos y funcional, calculadas a partir de las puntuaciones parciales).

En este trabajo se han analizado los factores extrínsecos al propio juez (dependientes del animal y del concurso) que condicionan su actuación en los concursos y consecuentemente la clasificación de los animales. Así se ha estudiado el efecto de la capa, la edad, el sexo, y la ganadería del animal, el concurso, el año y la Comunidad Autónoma donde se ha celebrado la prueba, sobre las puntuaciones emitidas por cada juez (interacción del juez con los diferentes factores), así como el efecto del número de animales participantes, animales juzgados por cada juez y el orden de participación.

Todos los factores estudiados han resultado ser estadísticamente significativos sobre las puntuaciones emitidas por los jueces.

Palabras claves: Equino, Esquema de Selección, Morfología, Movimientos, Variables de funcionalidad

Summary

Extrinsic effects that influence the evaluations of the judges in morpho-functional horse-shows of Spanish Purebred horses

The Spanish Purebred (PRE) horse is the most important breed in Spain due to its census, and its historical and socio-economical importance. PRE horses are evaluated according to their sportive performance, conformation and temperament within the Breeding Scheme of this breed.

Individuals (grouped by sex and age) are subjectively evaluated by judges in horse-shows. The aim of this study is to ascertain the influence of environmental factors (related to the animal and the show) influencing the scores and rankings.

Up to 8 morphological, 2 movement and 3 functional (only in 3 years-old males) traits are scored by show-judges using a numerical scale from 1 (the worst) to 10 (the best). Here, 3 composite traits cha-

racterising morphology, movement and functional performance of the individuals have been constructed using partial scores.

The effects of the coat colour, age, sex, stud, show-horse, year of celebration, state, total number of animals, number of judged animals and the order within age-sex group on judgements have been tested besides some interactions between these effects.

The statistical significance of the analysed effects on the scores given by the show-judges is discussed.

Key words: Equine, Breeding Scheme, Morphology, Movement, Functional traits

Introducción

El caballo de Pura Raza Española (PRE), con un censo de 75.389 animales vivos registrados en su Libro Genealógico (MAPyA, 2003), es la raza equina más importante de España, presentando una clara tendencia al incremento poblacional en los últimos años (Valera *et al.*, 2005a).

Su importancia económica se encuentra ligada principalmente a las actividades de cría (Rodríguez, 1999), aunque también es una raza muy utilizada para el ocio y el deporte (principalmente en la disciplina de doma clásica) gracias a su capacidad de aprendizaje y la armonía de sus aires (Molina *et al.*, 1999).

Esta raza ha sido seleccionada durante siglos en función de su morfología y su aptitud para la silla. Desde 2003, con la aprobación de su Esquema de Selección se ha comenzado la valoración de los animales tanto en función de su rendimiento, en las competiciones deportivas, como de su conformación y temperamento.

La importancia de la conformación en la selección equina se pone de manifiesto al condicionar en gran medida los movimientos, el rendimiento de los animales, y su precio en el mercado (Preisinger *et al.*, 1991). No obstante se ha puesto en entredicho la metodología tradicional de valoración para

esta aptitud (valoración regional por puntos).

Tradicionalmente, los caballos de PRE, agrupados en diferentes secciones en función de su sexo y su edad, han sido evaluados en concursos morfo-funcionales, mediante puntuaciones dentro de una escala en función de su relación con el "ideal" (Aparicio, 1997). Por ello, la evaluación es llevada a cabo de manera subjetiva y condicionada por la experiencia de los jueces (Holmström *et al.*, 1990). La influencia de algunos factores, como la ganadería, el concurso, el año de celebración, el juez, el sexo, la edad y la capa de los animales sobre las puntuaciones recibidas por los animales de PRE, ya ha sido evidenciada con anterioridad para esta raza (Valera *et al.*, 2005b).

A pesar de ello, los resultados de los concursos morfofuncionales celebrados son una importante fuente de información que debe ser analizada con el objetivo de determinar los factores y caracteres extrínsecos que determinan la puntuación final de los animales por parte de los jueces.

Material y métodos

Se ha elaborado una base de datos con un total de 192.487 puntuaciones procedentes de las 7.041 participaciones de los 4.223 animales de PRE presentados en las 58 pruebas

morfo-funcionales celebradas entre 1999 y 2003 en todo el territorio nacional.

Para este estudio, los animales han sido clasificados en función de: su capa (8 clases), edad (6 clases: 1, 2, 3, 4-5, 6-7, ≥ 8 años), sexo (2 clases: machos y hembras), ganadería de origen (990 ganaderías), concurso en el que han participado (17 concursos diferentes), año de celebración (5 años: 1999-2003) y Comunidad Autónoma donde se celebra la prueba (8 Comunidades).

Los jueces emiten puntuaciones para tres tipos de caracteres: morfológicos (8 notas que se corresponden con 7 regiones corporales y 1 valoración general), de movimientos (2 notas de armonía de los movimientos básicos al paso y al trote) y funcionales (tres notas técnicas, una para cada aire: paso, trote y galope). La puntuación funcional únicamente se emite para los machos mayores de tres años.

Cada una de estas notas ha sido recogida en una escala numérica de 1 (muy malo) a 10 (muy bueno), con incrementos de 0,5 puntos. En el momento de la evaluación los animales se agrupan en diferentes secciones en función de su sexo y su edad (12 grupos).

En este estudio, además de las puntuaciones parciales, se han utilizado tres notas globales para cada juez que combinan todas las notas de morfología, de movimientos y de funcionalidad. Las abreviaturas y las definiciones de cada variable en análisis se han recogido en la tabla 1. En la figura 1 se han representado los histogramas de distribución de frecuencias para cada factor externo analizado, de los cuales, cuatro se relacionan con el animal (capa, sexo, edad y ganadería) y tres con el concurso (concurso, año y Comunidad Autónoma donde se celebra). Todas las clases se encuentran suficientemente representadas para todos los factores.

Mediante los programas estadísticos SAS v.6.2. (SAS, 1996), y el Statistica for window (Statsoft, Inc., 2001) se ha realizado un estudio estadístico básico (estadísticos básicos, histogramas de frecuencias etc.) y un análisis mediante diversos modelos lineales generales de la significación de los diferentes factores analizados sobre todas las variables. Finalmente se ha estimado la varianza absorbida por cada uno de los factores significativos mediante un procedimiento REML.

Por último se ha realizado un análisis factorial de componentes principales y un discriminante canónico para analizar las interrelaciones entre los diferentes caracteres evaluados y algunos de los principales factores analizados.

Resultados y discusión

Desde la domesticación del caballo, hace unos 8000 años, el hombre ha venido seleccionando a los reproductores valorando sus características morfológicas y funcionales (Rodero, 2005). A lo largo del siglo pasado, el caballo pasó de ser un animal orientado exclusivamente al trabajo, a ser un animal de ocio orientado a diferentes actividades lúdicas entre las que destacan los eventos populares y las celebraciones oficiales, como las pruebas deportivas y los concursos morfológicos específicos para cada raza.

La utilidad de los concursos morfológicos tradicionales ha sido indudable a pesar de que no pasan de ser una valoración fenotípica de la morfología y movimientos de los animales, ya que han servido para luchar contra las anomalías y/o defectos importantes de los animales (Aparicio, 1997), además de jugar un papel económico fundamental para el sector equino al ser el principal esca-

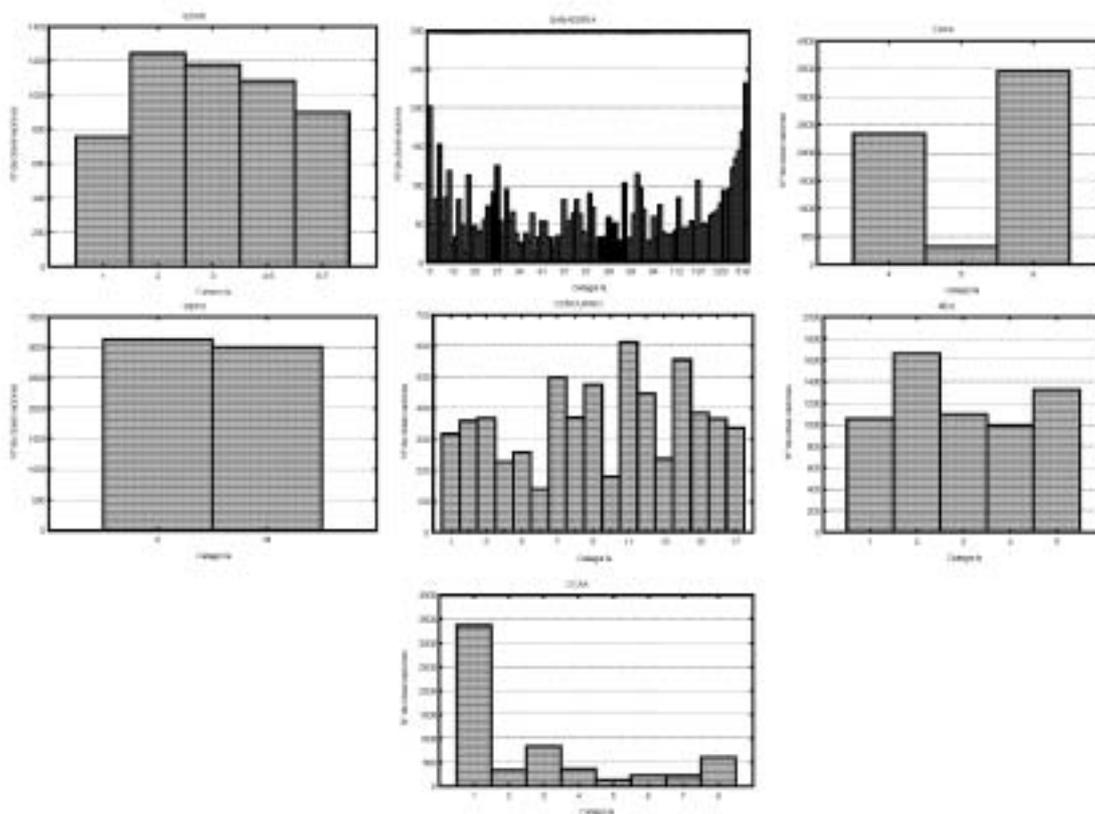


Figura 1. Histogramas de distribución de los factores en análisis relacionados con el animal (edad, capa, sexo y ganadería) y el concursos (concurso, año y Comunidad Autónoma).
 Figure 1. Histograms of the frequency distribution of the factors analysed in this study related to the animal (age, coat colour, sex and stud) and to the show (name, year and state).

parate de la mayoría de las razas equinas (Rodríguez, 1999).

No obstante, existen numerosos argumentos en contra del sistema de valoración seguido en estos concursos frente a otras modalidades más modernas (Fernández et al., 1998). Entre los principales inconvenientes que se le achacan, destaca la poca precisión y la subjetividad de las puntuaciones emitidas por los jueces. En este aspecto donde se encuadra el presente trabajo, que pretende analizar, como fuente de subjetivi-

dad, los factores externos al propio juez que condicionan su puntuación.

Los estadísticos básicos para las 16 variables en estudio, junto con la estimación de la varianza absorbida por el propio animal, el juez evaluador, y la interacción entre ambos y el error se presentan en la tabla 2. Podemos observar que los Coeficientes de Variación (CV) estimados para las distintas variables en estudio oscilan entre el 3,96% (puntuación total de morfología) y el 14,04% (evaluación técnica del paso). La menor variabilidad observada en la puntua-

Tabla 1. Abreviaturas y definiciones de las variables estudiadas
 Table 1. Description of the analysed traits

Puntuación	Abrev	Definición
		Puntuaciones de Movimientos
<i>Armonía al paso</i>	Mp	Evaluación general del paso
<i>Armonía al trote</i>	Mt	Evaluación general del trote
		Puntuaciones de Morfológicas
<i>Cabeza y cuello</i>	CC	Evaluación de cabeza y cuello
<i>Espalda y Cruz</i>	EC	Evaluación de espalda y cruz
<i>Pecho y tórax</i>	PT	Evaluación de pecho y tórax
<i>Dorso y lomo</i>	DL	Evaluación de dorso y lomo
<i>Grupa y cola</i>	GC	Evaluación de grupa y cola
<i>Miembros torácicos</i>	MT	Miembros torácicos: extremidades y aplomos
<i>Miembros pelvianos</i>	MP	Miembros pelvianos: extremidades y aplomos
<i>Conjunto de formas</i>	CF	Conjunto de formas
		Puntuaciones Funcionales
<i>Paso</i>	P	Evaluación técnica del paso
<i>Trote</i>	T	Evaluación técnica del trote
<i>Galope</i>	G	Evaluación técnica del galope
		Puntuaciones Globales
<i>Morfología</i>	T_Mf	Puntuación total de morfología: media de todas las notas de morfología menos las referentes a los movimientos básicos
<i>Movimientos</i>	T_Mv	Puntuación total de movimientos: media de las notas de morfología referentes a los movimientos básicos
<i>Funcionalidad</i>	T_Fn	Puntuación total de funcionalidad: media de las notas de funcionalidad

ción total de morfología podría ser explicada por la mayor homogeneidad de los jueces en los criterios de evaluación aplicados para la morfología o a una homogeneidad de la morfología de la población en estudio frente a unos parámetros de locomoción más variable en esta raza. Back et al. (1994) destacó la utilidad de las valoraciones subjetivas de los movimientos para la selección en caballos jóvenes de trote, por lo que la gran variabilidad detectada en estas puntuaciones podría deberse a la existencia de una elevada variabilidad real en la población. No obstante algunos especialistas han indicado que las puntuaciones que reciben los animales de PRE sobre los aires no son rigurosas (Collar, 2006), por lo que es posi-

ble pensar que los criterios de evaluación de la funcionalidad no se encuentran bien establecidos en la actualidad (más bien la metodología poco precisa y subjetiva de evaluación de estos criterios al no existir en este tipo de concursos ningún tipo de criterio objetivo de evaluación).

Como ya ha sido señalado en estudios realizados para otras razas (Butler, 1987; Preisinger et al., 1991), la utilización de la escala de evaluación por parte de los jueces es limitada. En este estudio se limita a un rango de 5 a 6 puntos de variación en las notas emitidas sobre 10 puntos, y a un rango de 52,5 a 65 puntos para las puntuaciones emitidas sobre una escala de 100 puntos. A pesar de la escasa utilización del

límite inferior de la escala para todas las puntuaciones emitidas, se observa una mayor diferenciación entre los animales de menor calidad y los animales de calidad

media debido a una redistribución de la escala (figura 2), en la que los animales de calidad media reciben una puntuación media próxima a 7 puntos.

Tabla 2. Estadísticos básicos y varianza absorbida por los factores más importantes de las 16 variables morfofuncionales en estudio

Table 2. Basic statistics and variance absorbed for the main factors of the 16 morphofunctional traits in analysis

	Estadísticos básicos			C.V %	Varianza		
	Media	Mínimo	Máximo		% animal	% juez	% animal*juez
Mp	7,42	4,00	9,50	8,014	41,602	7,885	34,412
Mt	7,55	4,00	9,60	8,197	n.s.	n.s.	84,015
CC	7,71	4,50	10,00	7,954	12,713	9,946	49,745
EC	8,03	5,00	10,00	6,961	70,015	16,914	9,978
PT	7,98	4,90	10,00	6,212	29,717	41,886	19,835
DL	7,18	4,00	9,50	8,461	12,278	69,083	16,377
GC	7,78	4,00	10,00	6,698	n.s.	9,527	66,497
MT	6,90	4,00	9,00	8,338	n.s.	24,201	61,834
MP	6,85	3,50	9,00	9,288	5,845	n.s.	81,109
CF	7,86	4,60	10,00	6,561	19,823	74,173	0,716
P	68,20	28,00	90,00	14,043	61,751	8,492	26,289
T	70,48	30,00	95,00	12,138	70,813	n.s.	26,488
G	71,27	40,00	92,50	10,574	48,213	n.s.	49,288
T_Mf	7,53	5,31	8,81	3,957	n.s.	27,831	68,493
T_Mv	7,49	4,50	9,19	6,712	19,202	n.s.	64,549
T_Fn	69,98	33,33	88,33	10,723	62,889	n.s.	35,864

Donde: Mp es la evaluación general del paso, Mt es la evaluación general del trote, CC es la evaluación de cabeza y cuello, EC es la evaluación de espalda y cruz, PT es la evaluación de pecho y tórax, DL es la evaluación de dorso y lomo, GC es la evaluación de grupa y cola, MT es la evaluación de los miembros torácicos: extremidades y aplomos, MP es la evaluación de los miembros pelvianos: extremidades y aplomos, CF es la evaluación del conjunto de formas, P es la evaluación técnica del paso, T es la evaluación técnica del trote, G es la evaluación técnica del galope, T_Mf es la Puntuación total de morfología, T_Mv es la puntuación total de movimientos y T_Fn es la Puntuación total de funcionalidad.

Where: Mp is the general evaluation of the walk, Mt is the general evaluation of the trot, CC is the evaluation of head and neck, EC is the evaluation of shoulder and withers, PT is the evaluation of chest and thorax, DL is the evaluations of back and loin, GC is the evaluation of croup and tail, MT is the evaluation of the forelimbs: leg and stance legs, MP is the evaluation of the hindlimbs: leg and stance legs, CF is the overall evaluation, P is the walk technical score, T is the trot technical score, G is the gallop technical score, T_Mf is the morphological total score, T_Mv is the movement total score and T_fn is the functional technical score.

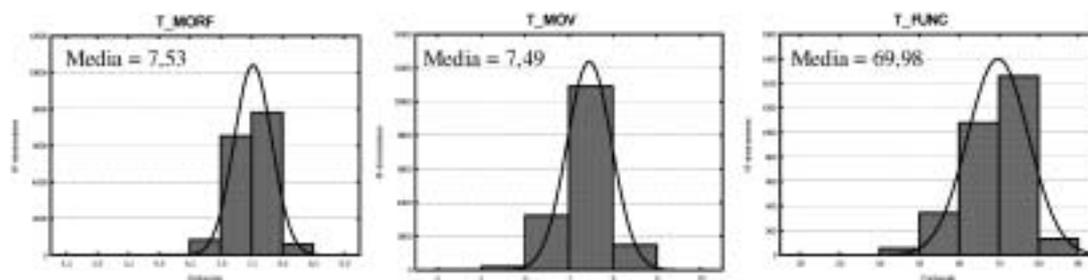


Figura 2. Distribución de las puntuaciones globales de morfología, movimientos y funcionalidad.
 Figure 2. Distribution of the total scores of morphology, movement and functionality.

En el análisis preliminar que incluye el factor animal, el juez y la interacción entre ambos, se puede observar (tabla 2) que la interacción entre el animal y el juez explica el mayor porcentaje de varianza para el 50% de las variables analizadas, siendo el juez el responsable del mayor porcentaje de variación sobre el 18,75% de las variables (pecho-tórax, dorso-lomo, y conjunto de formas), todas ellas de morfología. Esto pone de manifiesto la subjetividad de las observaciones emitidas por los jueces, ya que el sistema de evaluación empleado se basa en la comparación directa del animal a evaluar con el animal "ideal" de cada juez (además de otros factores que puedan condicionar esta puntuación ajenos al propio animal, como podría ser el prestigio de la ganadería del animal en evaluación).

En la tabla 3 se recogen los resultados obtenidos en el análisis de la influencia de los distintos factores analizados sobre las puntuaciones globales emitidas por los jueces en los concursos morfo-funcionales de caballos de PRE. Se puede observar como la influencia de los factores relacionados con la prueba (concurso, año y CCAA) es más evidente sobre la nota de funcionalidad que sobre las notas de morfología y movimientos, que se ven afectadas sobre todo por factores relacionados con el animal (capa, edad, sexo y ganadería), al igual que indicaron Jakubec et al. (1999) al

trabajar con caballos de raza Old Kladrub. Este hecho se puede deber a que para morfología y movimientos, los machos y las hembras de diferentes edades se han tratado dentro de una misma sección (agrupación de los animales en función de su sexo y edad), mientras que la puntuación de funcionalidad se estudia únicamente para machos con edades mayores o igual a tres años (figura 4).

Como se puede observar, todas las interacciones analizadas entre los distintos factores y el juez afectan significativamente a la puntuación de funcionalidad, lo cual es indicativo de la falta de uniformidad en los criterios de evaluación utilizados por los diferentes jueces al evaluar la funcionalidad de los animales. Así mismo se han encontrado diferencias significativas en la evaluación de la morfología y los movimientos en función de la *capa*, poniéndose en evidencia las preferencias de los jueces por unas capas determinadas; el *concurso*, debido a las diferencias en el nivel de los animales que se presentan a las distintas pruebas al ser algunas de ellas "finales" a las que acceden sólo animales clasificados previamente; y la *ganadería*, que se encuentra relacionada con la calidad genética de los participantes, el morfotipo específicamente seleccionado por el ganadero y las preferencias (ajuste con el ideal) de cada juez (Preisinger et al., 1991).

Tabla 3. Análisis de la influencia de los distintos factores externos sobre las puntuaciones del juez: nivel de significación y porcentaje de varianza explicado por cada factor
 Table 3. Influence of environmental factors affecting show-judgements: signification and percentage of explained variance

	Total morfología por juez		Total movimientos por juez		Total funcionalidad por juez	
	F	% varianza	F	% varianza	F	% varianza
Animal						
Capa	14,07***	9,321	5,22**	0,145	1,65	n.s.
Capa*juez	24,96***		14,63***		10,81***	
Edad	22,74***	0,495	3,42**	2,466	1,23	0,021
Edad*juez	n.s.		n.s.		9,77***	
Sexo	119,96***	n.s.	5,12*	n.s.	1,03	n.s.
Sexo*juez	n.s.		0,00		26,06***	
Ganadería	8,47***	45,579	7,25***	52,282	5,23***	44,264
Ganadería*juez	2,32***		2,05***		1,34***	
Prueba						
Concurso	70,18***	22,020	67,89***	23,734	19,55***	19,849
Concurso*juez	32,27***		32,77***		11,16***	
Año	n.s.	13,386	n.s.	6,132	33,23***	19,649
Año*juez	n.s.		n.s.		12,24***	
CCAA	n.s.	9,198	n.s.	15,240	21,21***	16,2166
CCAA*juez	n.s.		n.s.		14,40***	

Los asteriscos representan el nivel de significación para cada efecto sobre las diferentes variables (*- $p < 0.05$, **- $p < 0.01$, ***- $p < 0.001$) / The asterisk shows the level of significance for each effect on the different variables (*- $p < 0.05$, **- $p < 0.01$, ***- $p < 0.001$).

El análisis de la influencia del número de animales participantes, el número de animales juzgados por cada juez y el orden de participación del animal en la prueba (tabla 4) evidencia que los tres factores son significativos sobre todas las variables analizadas. La influencia del número de animales participantes y del número de animales juzgados por cada juez se puede justificar por el cansancio que experimentan los jueces durante las pruebas morfofuncionales, dado el gran número de animales participantes, así como por la aptitud psicológica de reserva del juez al emitir las puntuaciones (consciente o inconscientemente). La influencia del orden de participación sobre las notas emitidas por los jueces puede explicarse por la tendencia a puntuar más bajo a los animales que participan en los primeros lugares,

debido al desconocimiento de la calidad de los individuos que se van a presentar posteriormente en la prueba.

Se ha realizado un análisis factorial con el objetivo de determinar las regiones del animal que más influyen en las puntuaciones emitidas por los jueces y las relaciones existentes entre ellas (figura 3). Como cabía esperar, las puntuaciones totales por juez para morfología, movimientos y funcionalidad se encuentran relacionadas con las distintas variables individuales a partir de las cuales se calculan. No obstante, la puntuación total de movimientos, se relaciona también con las puntuaciones para los miembros y aplomos torácicos y pelvianos (que condicionan el rendimiento deportivo y la vida útil de los animales –Wallin et al., 2001–) y la puntuación para la región de

dorso y lomo (región anatómica que transmite la fuerza entre ambos miembros y que por lo tanto condicionará los movimientos y el rendimiento deportivo del animal –Baird, 1998; Johnston et al., 2002; Rhodin et al., 2005–). Así mismo la puntuación global por

juez para la morfología se relaciona con las puntuaciones recibidas en las regiones corporales más relacionadas con la conformación racial de los individuos como son la región de cabeza-cuello y la región de grupa-cola.

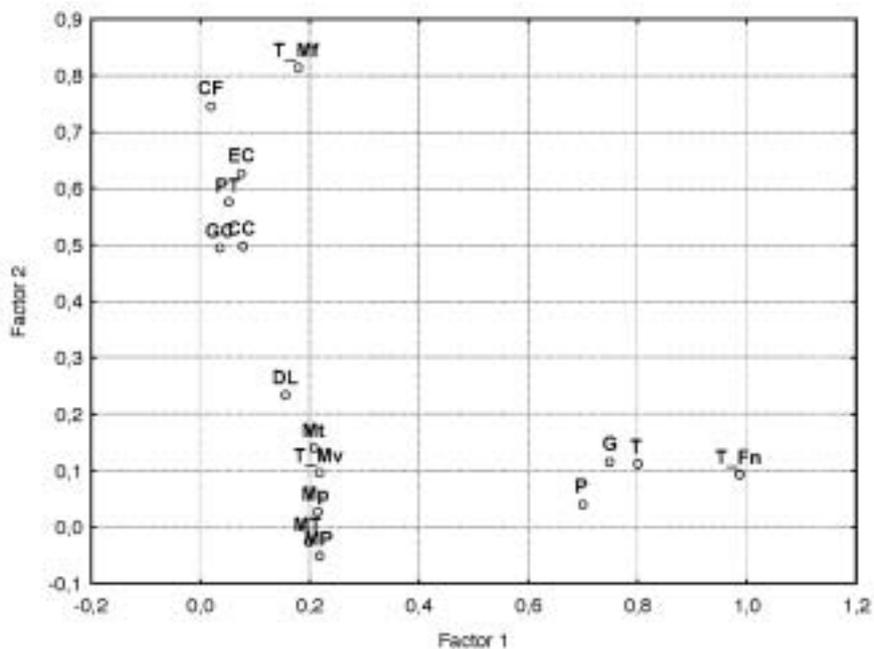


Figura 3. Representación gráfica del análisis factorial para las 16 variables analizadas.
 Figure 3. Graphic representation of the factor analysis for the 16 analysed traits.

Tabla 4. Análisis de la influencia del número de animales participantes y el número de animales evaluados por cada juez sobre las puntuaciones emitidas por juez

Table 4. Influence of the total number of animals and the number of judged animals on the judgement scores

	Value	F	p
Nparticipantes	0,981640	1,8785	0,018486*
Njuzgados	0,977717	2,2891	0,002569**
Posición	0,931183	7,4227	0,000000***
Nparticipantes*Njuzgados	0,983360	1,6996	0,040570*
Nparticipantes*Posición	0,965640	3,5738	0,000002***
Njuzgados*Posición	0,988308	1,1882	0,269587
Nparticipantes*Njuzgados*Posición	0,969276	3,1837	0,000020***

Los asteriscos representan el nivel de significación para cada efecto sobre las diferentes variables (*-p<0.05, **-p<0.01, ***-p<0.001) / The asterisks shows the level of significance for each effect on the different variables (*-p<0.05, **-p<0.01, ***-p<0.001).

Por último, se ha realizado un análisis canónico (figura 4) para las distintas secciones (grupos de edad-sexo). Se observa que la variable canónica 1 separa ambos sexos para los distintos grupos de edad, excepto para los potros de 1 año, mientras que la segunda variable canónica separa a los animales en función de su edad. Normalmente, las hembras y los animales más jóvenes reciben las puntuaciones más bajas, mientras los machos y los animales de mayor edad, reciben las más altas. Esto nos indicaría que los criterios evaluadores de los jueces también varían según la sección en la que compete el animal (independientemente de que existan diferencias genéticas entre los animales participantes en las diferentes seccio-

nes). Este hecho también le resta utilidad a este tipo de valoraciones para la mejora de la morfología y funcionalidad del animal, dado que este va a recibir una puntuación diferente simplemente según la edad con que se presente al concurso.

Se podría concluir que la evaluación de la conformación mediante esta metodología se debe contemplar como un proceso de observación que puede determinar si un caballo se moverá bien, será capaz de soportar un peso y permanecerá sano, no como un sistema objetivo de evaluación que tenga utilidad para la mejora de la población. Su falta de precisión (pe. un mismo animal puede recibir muy diferentes puntuaciones

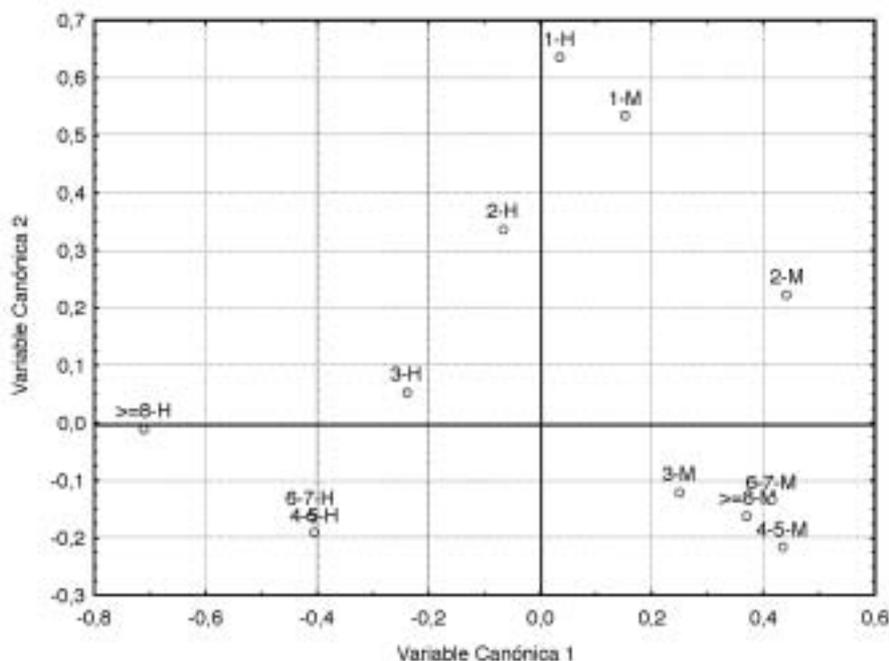


Figura 4. Análisis canónico de relación entre los distintos grupos de edad-sexo establecidos.
 Figure 4. Canonical analysis of the relationship between the different groups of age-sex established.
 Donde M = macho, H = hembra; los caracteres numéricos se corresponden con los rangos de edades englobados en cada grupo.
 Where: M = male, H = female; the numerical characters are related to the range of age grouped in each class.

en función de la edad con que concurre, el lugar, o el número de concursantes etc.), y la subjetividad de las puntuaciones de los jueces (condicionados por diversos factores intrínsecos y extrínsecos al propio juez) lo inhabilitan para la valoración genética para morfología o funcionalidad.

Esto justifica la necesidad de desarrollar un sistema de valoración morfológica lineal en el PRE (prácticamente concluido) y de valorar la funcionalidad mediante criterios objetivos como el comportamiento en el treadmill (Valera et al., 2006).

Bibliografía

- Aparicio JB, 1997. Concursos Morfológicos y su importancia en la selección. In: El caballo español. pp: 23-24. Ed. Junta de Andalucía. Serie Congresos y Jornadas 38/97. Sevilla.
- Back W, Barneveld A, Bruin G, Schamhardt HC, Hartman W, 1994. Kinematic detection of superior gait quality in young trotting warmbloods. *Vet. Q.* 16 (2), 91-96.
- Baird R, 1998. Sport Horse Conformation and the Breeder (<http://americantrakehner.com/SportHorse%20Conformation/SHCpart1.htm>).
- Butler IV, 1987. Genetic parameters for conformation traits in the Bavarian heavy horse. EAAP, Lisbon, Portugal, 28 september-1 october, vol. II, p. 1350.
- Collar P, 2006. El caballo de Pura Raza Española: un caballo olímpico. VI Jornadas Ecuéstricas. Foro de Opinión: el Caballo Español. Sevilla.
- Fernández G, Valera M, Molina A, 1998. La valoración morfológica lineal en el caballo de Pura Raza Española. *AYMA* 38 (1), 7-10.
- Holmström M, Magnusson LE, Philipsson J, 1990. Variation in conformation of Swedish warmblood horses and conformational characteristics of elite sport horses. *Equine Vet. J.* 22: 186-193.
- Jakubec V, Schlote W, Jelínek J, Scholz A, Zális N, 1999. Linear type traits analysis in the genetic resource of the Old Kladrub Horse. *Archiv für Tierzucht* 42 (3), 215-224.
- Johnston C, Holmt K, Faber M, Erichsen C, Eksell P, Drevemo S, 2002. Effect of conformational aspects on the movement of the equine back. *Equine Vet. J. Suppl.* 34, 314-318.
- MAPYA, 2003. Estudio y caracterización del sector equino en España. Madrid. (<http://www.mapa.es/app/Equino/Informacion/Infsector.aspx?lng=es>).
- Molina A, Valera M, Dos Santos R, Rodero A, 1999. Genetic parameters of morphofunctional traits in Andalusian horse. *Livest. Prod. Sci.* 60: 295-303.
- Preisinger R, Wilkens J, Kalm E, 1991. Estimation of genetic parameters and breeding values for conformation traits for foals and mares in the Trakehner population and their practical implications. *Livest. Prod. Sci.* 29, 77-86.
- Rodero A, 2005. Base genética de la Valoración Morfológica Lineal. V Jornadas Ecuéstricas. Foro de Opinión: el Caballo Español. Sevilla.
- Rhodin M, Johnston C, Roethlisberger Holm K, Wennerstrand J, Drevemo S, 2005. The influence of head and neck position on kinematics of the back in riding horses at the walk and trot. *Equine Vet. J.* 37 (1), 7-11.
- Rodríguez JJ, 1999. Aspectos socioeconómicos del mundo del caballo: la industria del caballo y nuevas perspectivas. In Congreso Internacional del Caballo de Pura Raza Española: 67-92. Ed. Fundecyt. Badajoz. Spain.
- SAS, 1996. Statistical Analysis System (SAS) for Windows release 6.12. Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Statsoft Inc., 2001. STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.
- Valera M, Molina A, Gutiérrez JP, Gómez J, Goyache F, 2005^a. Pedigree analysis in the Andalusian horse: population structure, genetic variability and influence of the Carthusian strain. *Livest. Prod. Sci.* 95, 57-66.

Valera M, Gessa JA, Gómez MD, Horcada A, Medina C, Cervantes I, Goyache F, Molina A, 2005^b. Preliminary análisis of the morphofunctional evaluation in horse-show of the Spanish Purebred (Andalusian) horse. 56th Annual Meeting of the European Association for Animal Production June 5-8 2005, Uppsala, Sweden.

Valera M, Gómez MD, Morales JL, Agüera E, Vivo J, Rodero A, Molina A, 2006. Estimación preli-

minar de los parámetros genéticos de las variables biocinémáticas al paso en caballos de Pura Raza Española en cinta rodante. XIII Reunión Nacional de Mejora Genética Animal. Gijón.

Wallin L, Strandberg E, Philipsson J, 2001. Phenotypic relationship between test results of Swedish Warmblood horses as 4-year-olds and longevity. *Livest. Prod. Sci.* 68, 97-105.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Evaluación simultánea de la fertilidad del macho y de la hembra en el vacuno de leche

O. González-Recio, R. Alenda

Departamento de Producción Animal - E.T.S.I. Agrónomos (UPM). Ciudad Universitaria s/n. 28040 Madrid.

Resumen

La fertilidad del macho y de la hembra se evaluó simultáneamente a través del número de inseminaciones, usando un modelo umbral secuencial. La fertilidad del semen de los toros se consideró como un efecto dependiente del tiempo, permitiendo diferentes machos en cada inseminación. Las estimas posteriores para la varianza del toro inseminador y la genética para la fertilidad de la hembra fueron 0,02 y 0,04, respectivamente. La media posterior de la heredabilidad para el número de inseminaciones fue de 0,03. La correlación entre la fertilidad de los machos y de las hembras resultó no significativa.

El modelo umbral secuencial permitió un análisis simultáneo de la fertilidad del macho y la de sus hijas, incluyendo efectos dependientes del tiempo así como datos censurados. De esta manera es posible incluir ambas fertilidades en las evaluaciones genéticas de forma que tanto los centros de inseminación como los ganaderos dispongan de los datos completos de fertilidad de los toros, evaluados con toda la información posible y teniendo en cuenta todos los factores posibles que afectan a la fertilidad de los toros y las vacas.

Palabras clave: fertilidad, semen, factores dependientes del tiempo, modelo umbral secuencial

Summary

Simultaneous evaluation for male and female fertility in dairy cattle

Male and female fertility were evaluated through the number of inseminations to conception, using a sequential threshold model. Male fertility was considered as a time-dependent effect allowing for different service bulls in each insemination. Posterior estimates for service sire variance and female fertility genetic variance were 0.02 and 0.04, respectively. Posterior mean for female fertility heritability, through liability to number of inseminations to conception, was 0.03. The correlation between male and female fertility was not significant.

The sequential threshold model allowed for a simultaneous analysis of male and female fertility, including time-dependent covariates, as well as censored records. Hence, it is possible to consider both male and female fertility in the genetic evaluations. Thus, complete data and fertility estimates are provide to both farmers and artificial insemination studs. These estimates consider all information available and all possible factors affecting to male and female fertility.

Key words: fertility, semen, time-dependency, sequential threshold model

Introducción

El número de inseminaciones es el carácter de fertilidad que probablemente refleja la

fertilidad de la hembra de forma más directa, y además permite cuantificar los aspectos económicos de la fertilidad de manera más precisa (González-Recio *et al.*, 2004).

Sin embargo, son muchos los factores que influyen en la fertilidad de la hembra en el vacuno de leche. Entre ellos se encuentran el tipo de manejo al que se someta al animal, la fertilidad del semen con el que se insemine, o la habilidad del técnico que realiza la inseminación (Buckley *et al.*, 2003). Los caracteres usados habitualmente para medir la fertilidad, como los días abiertos, las tasas de no retorno e incluso el número de inseminaciones, no han tenido en cuenta estos factores debido a la incapacidad de incluir factores dependientes del tiempo con los métodos tradicionales. El modelo umbral secuencial descrito por Albert y Chib (2001) permite analizar caracteres que ocurren de una forma secuencial, como el número de inseminaciones, y permite considerar efectos dependientes del tiempo, como el toro inseminador. De esta forma podemos evaluar simultáneamente la fertilidad del macho y de la hembra a través del número de inseminaciones, ajustando por los posibles efectos dependientes del tiempo y lo ocurrido en las inseminaciones previas. Además podemos tener en cuenta la influencia que tiene la fertilidad de la hembra y su estado de lactación para evaluar correctamente la fertilidad del semen de los machos.

El objetivo de este trabajo fue estimar componentes de varianza para evaluar la fertilidad del macho y de la hembra simultáneamente a través del número de inseminaciones, usando el modelo umbral secuencial en el vacuno de leche y aplicando un modelo animal.

Material y métodos

Se utilizaron los datos del control lechero y los registros de inseminaciones artificiales entre 1994 y 2005 procedentes del País Vasco y Navarra. Tras editar los archivos se

trabajó con un total de 395.979 registros de inseminaciones en 98.888 vacas. La genealogía estuvo constituida por 134.612 animales.

El modelo umbral secuencial descrito por Albert y Chib (2001) se aplicó al caso del número de inseminaciones por concepción, de manera que una vaca debe pasar primero por $j-1$ inseminaciones previas antes de concebir o fallar en la inseminación j . Se consideraron las observaciones de las 5 primeras inseminaciones por lactación. Este modelo puede formularse en términos de una función de riesgos discretos, o bien en términos de variables subyacentes, tal como se describe a continuación.

Para cada observación del número de inseminaciones y_i , definimos j variables subyacentes ω_{ij} (para j desde 1 hasta y_i), tal que:

$$\omega_{ij} - \gamma_j = \mathbf{x}'_i \boldsymbol{\beta} + \mathbf{z}'_{ra,i} \mathbf{ra} + \mathbf{z}'_{tec,i} \mathbf{tec} + \mathbf{z}'_{ti,i} \mathbf{ti} + \mathbf{z}'_{p,i} \mathbf{p} + \mathbf{z}'_{a,i} \mathbf{a} + e_{ij}$$

donde $\boldsymbol{\beta}$ representa los efectos sistemáticos de días a la inseminación (5 niveles), grupo lactación-edad al parto (16 niveles), y año-epoca de parto (33 niveles); \mathbf{x}_i corresponde al vector de incidencias. Otros efectos en el modelo fueron: \mathbf{ra} = rebaño-año de inseminación (3673 niveles) distribuido de forma independiente como $N(0, \mathbf{I}\sigma_{ra}^2)$, donde σ_{ra}^2 es la varianza entre los grupos de comparación de rebaño-año de inseminación, \mathbf{tec} = técnico inseminador (123 niveles) distribuido de forma independiente como $N(0, \mathbf{I}\sigma_{tec}^2)$, donde σ_{tec}^2 es la varianza entre técnicos inseminadores, \mathbf{ti} = toro inseminador (825 niveles) distribuido de forma independiente como $N(0, \mathbf{I}\sigma_{ti}^2)$, donde σ_{ti}^2 es la varianza entre toros, \mathbf{p} = efecto permanente de la vaca (98.888 niveles) distribuido de forma independiente como $N(0, \mathbf{I}\sigma_p^2)$, donde σ_p^2 es la varianza del efecto permanente, y \mathbf{a} = efecto aditivo genético (134.612 niveles) distribuido de forma independiente como $N(0, \mathbf{I}\sigma_a^2)$, donde σ_a^2 es la varianza aditiva y \mathbf{A}

la matriz de parentesco. Además $\mathbf{z}_{ra,i}$, $\mathbf{z}_{tec,i,j}$, $\mathbf{z}_{ti,i,j}$, $\mathbf{z}_{p,i,j}$, $\mathbf{z}_{a,i}$ fueron sus correspondientes vectores de incidencia. Los residuos e_{ij} se distribuyen como NIID (0,1). Estos residuos se consideran independientes entre inseminaciones dentro de una lactación puesto que el modelo secuencial ya tiene en cuenta lo ocurrido en las inseminaciones anteriores. El vector $\gamma = (\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4, \gamma_5)$ representa los valores umbrales que separan las variables subyacentes de las inseminaciones positivas de las que no lo fueron, en cada inseminación j .

En general:

$$y_i = \begin{cases} 1 & \text{si } \omega_{2i} \leq \gamma_1 \\ 2 & \text{si } \omega_{2i} > \gamma_1, \omega_{2i} \leq \gamma_2 \\ 3 & \text{si } \omega_{2i} > \gamma_1, \omega_{2i} > \gamma_2, \omega_{2i} \leq \gamma_3 \\ 4 & \text{si } \omega_{2i} > \gamma_1, \omega_{2i} > \gamma_2, \omega_{2i} > \gamma_3, \omega_{2i} \leq \gamma_4 \\ 5 & \text{si } \omega_{2i} > \gamma_1, \omega_{2i} > \gamma_2, \omega_{2i} > \gamma_3, \omega_{2i} > \gamma_4, \omega_{2i} \leq \gamma_5 \end{cases}$$

De esta forma observamos $y_i = j$ (para $1 \leq j \leq 5$) si las primeras $j-1$ inseminaciones fueron fallidas, por tanto su variable subyacente correspondiente ω_{ij} excedió el umbral ' γ_j ' respectivo de cada una de las inseminaciones previas. Esta variable subyacente representa la probabilidad de que el animal reciba una siguiente inseminación, una vez que ha sido inseminada j veces. Obsérvese que los umbrales en el modelo secuencial no tienen por qué seguir un orden creciente, al contrario que ocurre en el modelo umbral estándar. La representación de la variable subyacente puede simplificarse incorporando los umbrales $\{\gamma_j\}$ en la función y fijando uno de ellos, normalmente $\gamma_1=0$. Cada una de estas variables puede quedar explicada por diferentes variables, así podemos incorporar efectos dependientes del tiempo en el modelo, tales como el toro inseminador, el técnico inseminador u otros efectos de interés. Además, podemos incorporar una variable indicadora de si el dato fue censurado o no, de manera que si la observación

en la última inseminación es censurada, sabemos que el animal no quedó gestante en dicha inseminación. De este modo podemos evaluar la fertilidad de las hijas de los toros al mismo tiempo que la fertilidad de su semen.

La verosimilitud en nuestro caso adoptó la siguiente forma:

$$L(\gamma, \beta, \alpha, \text{tec}, \text{ti}, \text{p}, \alpha) y^{\delta} = \prod_{i=1}^n \left[\Phi \left[\gamma_j - (\alpha \beta + \alpha'_{ra,i} \text{ra} + \alpha'_{tec,i} \text{tec} + \alpha'_{ti,i} \text{ti} + \alpha'_{p,i} \text{p} + \alpha'_{a,i} \alpha) \right] \times \prod_{j=1}^{j-1} \left[1 - \Phi \left[\gamma_j - (\alpha \beta + \alpha'_{ra,i} \text{ra} + \alpha'_{tec,i} \text{tec} + \alpha'_{ti,i} \text{ti} + \alpha'_{p,i} \text{p} + \alpha'_{a,i} \alpha) \right] \right] \right]^{\delta} \times \left[\prod_{j=1}^j \left[1 - \Phi \left[\gamma_j - (\alpha \beta + \alpha'_{ra,i} \text{ra} + \alpha'_{tec,i} \text{tec} + \alpha'_{ti,i} \text{ti} + \alpha'_{p,i} \text{p} + \alpha'_{a,i} \alpha) \right] \right] \right]^4$$

donde $\delta_i=1$ si la observación es censurada, y 0 en caso contrario.

Se asumieron a priori no informativos o impropios para los efectos sistemáticos. El análisis se implementó usando un muestreo de Gibbs (Gelfand and Smith, 1990), con una longitud de la cadena de 100.000 muestras, descartando las 10.000 primeras. La habilidad predictiva de este modelo para la fertilidad fue estudiada previamente por González-Recio *et al.* (2005), usando un modelo macho.

Resultados y discusión

La tabla 1 muestra el porcentaje de éxito en las cinco primeras inseminaciones realizadas en las lactaciones incluidas en este estudio. Este porcentaje osciló entre el 39 y el 29 % de éxito, disminuyendo este porcentaje al aumentar el número de inseminación, indicando que las vacas que llegan a la cuarta o quinta inseminación son menos fértiles. El modelo propuesto en este trabajo parece adaptarse de una forma apropiada a las

diferentes probabilidades de quedar gestante en cada inseminación una vez que se ha llegado a dicha inseminación. Estas probabilidades van cambiando en relación al orden de la inseminación practicada. De esta manera la fertilidad del semen de los toros no se confunde con el orden en el que se ha producido la inseminación, puesto que la probabilidad de obtener preñez no es la misma en la primera que en la cuarta o quinta inseminación, puesto que éstas últimas son normalmente sobre vacas con problemas de fertilidad.

La figura 1 muestra los histogramas de las distribuciones posteriores de la heredabilidad y las varianzas de los efectos no sistemáticos, mientras que la tabla 2 contiene las medias y desviaciones típicas para estas distribuciones, así como sus errores de Monte Carlo correspondientes. Se estimó una media posterior de 0,02 y 0,04 para las varianzas del toro inseminador y la genética, respectivamente. Debe tenerse en cuenta que la fertilidad del semen de los toros está influenciada en gran medida por el tratamiento que se aplica en los centros de inseminación para compensar la baja fertilidad de algunos toros, y esto puede reducir el valor de las estimas de la variabilidad para este efecto. Las estimas para la varianza del toro inseminador

coinciden con las encontradas por otros autores (A-Ranberg *et al.*, 2003; Averill *et al.*, 2004; Boichard y Manfredi, 1994), aunque estos autores utilizaron otras metodologías (modelos lineales, modelo umbral-longitudinal y modelo umbral, respectivamente) sobre caracteres diferentes (tasa de no retorno, éxito en las tres primeras inseminaciones y tasa de concepción, respectivamente). En este estudio no se han considerado relaciones de parentesco entre los toros inseminadores, y la evaluación muestra la fertilidad individual del semen de cada macho. En la actualidad no existe selección genética en los machos por la fertilidad del semen de sus ancestros, pero podría incluirse una matriz de parentesco en el efecto toro inseminador para distinguir familias de machos con semen de mayor fertilidad.

La estima de la heredabilidad fue baja (0,03), tal como ha sido estudiada para los caracteres de fertilidad, en concreto para el número de inseminaciones (Veerkamp *et al.*, 2001; Kadarmideen *et al.*, 2003; González-Recio y Alenda, 2005). Las estimas posteriores para las varianzas del rebaño-año de inseminación, técnico inseminador y efecto permanente fueron 0,07, 0,04 y 0,04, respectivamente.

Tabla 1. Número total de primeras, segundas, terceras, cuartas y quintas inseminaciones realizadas, con sus porcentajes de éxito respectivos

Table 1. Number of first, second, third, fourth and fifth inseminations, with their corresponding success percentages

	Total de IA	Inseminaciones positivas	% éxito
1 ^a	206427	79996	39
2 ^a	103021	39015	38
3 ^a	50126	17931	36
4 ^a	24181	7875	33
5 ^a	12224	3605	29

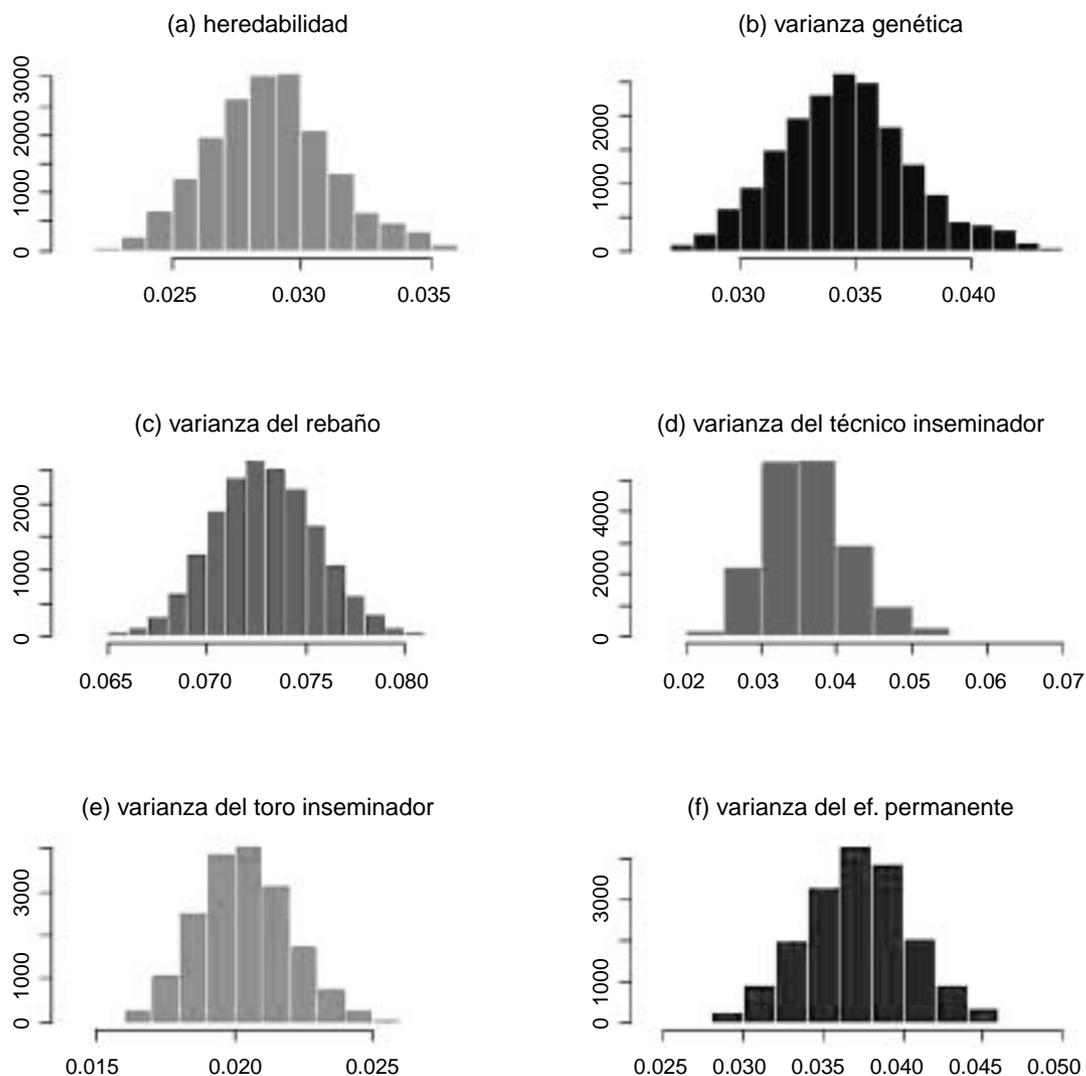


Figura 1. Histogramas de las distribuciones posteriores para la heredabilidad y varianzas genética, del rebaño-año, del técnico inseminador, del toro inseminador y del efecto permanente.
 Figure 1. Histograms of heritability genetic, herd-year technician, service sire and cow permanent effect variances posterior distributions.

Se estimó la correlación entre la fertilidad del semen de los toros y los valores genéticos para el número de inseminaciones (fertilidad de la hembra) que transmiten a sus hijas, para aquellos toros con más de 25 hijas, obteniendo una correlación de 0,05

($P > 0,28$), indicando que la fertilidad del semen del macho no guarda relación con la fertilidad de las hembras.

En este estudio se ha considerado el estado de lactación de la hembra a través del efec-

to días a la inseminación tras el parto, pero no se ha incluido el nivel productivo de la hembra en el momento de la inseminación. Podría ser interesante incluir en el modelo los kg de leche producidos en el control más cercano a cada inseminación, y estudiar su efecto sobre la fertilidad.

El modelo umbral secuencial parece ser un método apropiado para analizar simultáneamente la fertilidad de los toros y la de sus

hijas, puesto que permite evaluar lo ocurrido en cada inseminación, teniendo en cuenta toda la información disponible. Las evaluaciones de fertilidad de la hembra pueden incluirse en los índices de selección, para evitar el deterioro de la fertilidad. En el caso de las evaluaciones de la fertilidad del macho podrían ser de interés para que los centros de inseminación artificial presen más atención al semen de los toros menos fértiles.

Tabla 2. Medias y desviaciones típicas posteriores para las estimas de las varianzas del rebaño-año (σ^2_{ra}), técnico inseminador (σ^2_{tec}), toro inseminador (σ^2_{ti}), efecto permanente (σ^2_p) y genética (σ^2_g), así como para la heredabilidad (h^2).

Table 2. Means and Standard deviations for herd-year (σ^2_{ra}), technician (σ^2_{tec}), service sire (σ^2_{ti}), cow permanent effect (σ^2_p) and genetic (σ^2_g) variances and heritability (h^2) estimates.

	σ^2_{ra}	σ^2_{tec}	σ^2_{ti}	σ^2_p	σ^2_a	h^2
Media posterior	0,07	0,04	0,02	0,04	0,04	0,03
Desviación típica posterior	0,003	0,006	0,002	0,003	0,003	0,002
Error de Monte Carlo	4·10 ⁻⁵	7·10 ⁻⁵	2·10 ⁻⁵	4·10 ⁻⁴	4·10 ⁻⁴	3·10 ⁻⁴

Bibliografía

A-Ranberg I, Heringstad MB, Klemetsdal G, Svendsen M, Steine T, 2003. Heifer Fertility in Norwegian Dairy Cattle: Variance Components and Genetic Change. *J. Dairy Sci.* 86: 2706-2714.

Albert JH, Chib S, 2001. Sequential Ordinal Modeling with Applications to Survival Data. *Biometrics* 57 (3): 829-836.

Averill TA, Rekaya R, Weigel K, 2004. Genetic Analysis of Male and Female Fertility Using Longitudinal Binary Data. *J. Dairy Sci.* 87: 3947-3952.

Boichard D, Manfredi E, 1994. Genetic Analysis of Conception Rate in French Holstein Cattle. *Acta. Agric. Scand. Sect. A, Animal Sci.* 44: 138-145.

Buckley F, Mee J, O'Sullivan K, Evans R, Berry D, Dillon P, 2003. Insemination factors affecting the conception rate in seasonal calving Holstein-Friesian cows. *Reprod. Nutr. Dev.*, 43: 543-555.

Gelfand A, Smith AFM, 1990. Sampling based approaches to calculating marginal densities. *J. Anim. Stat. Assoc.* 85: 398-409.

Geyer CJ, 1992. Practical Markov chain Monte Carlo. *Stat. Sci.* 7: 473-511.

González-Recio O, Pérez-Cabal MA, Alenda R, 2004. Economic Value of Female Fertility and its Relationship with Profit in Spanish Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 87: 3053-3061.

González-Recio O, Alenda R, 2005. Genetic Parameters for Female Fertility Traits and a Fertility Index in Spanish Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 88: 3282-3289.

- González-Recio O, Chang YM, Gianola D, Weigel K, 2005. Number of Inseminations to Conception in Holstein Cows Using Censored Records and Time-Dependent Covariates. *J. Dairy Sci.* 88: 3655-3662.
- Kadarmideen HN, Thompson R, Coffey MP, Kossabati MA, 2003. Genetic parameters and evaluations from single- and multiple- trait analysis of dairy cow fertility and milk production. *Livest. Prod. Sci.* 81: 183-195.
- Veerkamp RF, Koenen EPC, De Jong G, 2001. Genetic correlations among body condition score, yield, and fertility in first-parity cows estimated by random regression models. *J. Dairy Sci.* 84: 2327-2335.
- (Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Estimación del valor económico de facilidad de parto en la población frisona del País Vasco

E. López de Maturana*, E. Ugarte*, H. Komen**, J.A.M. van Arendonk**

* NEIKER, A. B. Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario. Apdo. 46, 01080, Vitoria-Gasteiz, España;

** Animal Breeding and Genetics Group, Wageningen University, PO Box 338, 6700 AH Wageningen, The Netherlands

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue estimar el valor económico del carácter facilidad de parto (FP) en la población frisona de la Comunidad Autónoma del País Vasco (CAPV). Para ello, se cuantificaron los costes ocasionados por la aparición de partos difíciles teniendo en cuenta los gastos veterinarios y los costes derivados del trabajo extra del ganadero, de la reducción de la fertilidad, del desecho involuntario de animales, de la mortalidad en vacas y de la mortalidad perinatal. Estos costes fueron integrados en un modelo bioeconómico, en el que se consideraron las circunstancias de producción y de mercado en la CAPV relativas al año 2005. Debido a la naturaleza categórica del carácter FP, el valor económico fue derivado en la escala continua subyacente. El valor económico estimado considerando la situación actual, con un 2,5 % de partos distócicos, fue de 13,25 € por unidad en la escala subyacente normal estandarizada, vaca e intervalo entre partos. Se analizó asimismo la robustez y sensibilidad de dicha estima ante posibles alteraciones en el precio de mercado de los animales y posibles cambios en la incidencia de partos distócicos. El valor económico del carácter FP se ve más afectado por cambios en la incidencia de partos distócicos que por cambios en los precios de mercado de los animales. A pesar de ello, y dada la baja incidencia de partos distócicos existente en esta población, el valor económico de FP en la población frisona de la CAPV es bastante robusto.

Palabras clave: Facilidad de parto, Valor económico, Análisis de sensibilidad

Summary

Estimation of economic value for calving ease in Basque Hostein population

The objective of this study was the estimation of the economic value for CE in Basque Holstein population. To estimate the economic costs for each level of CE the following factors were considered: veterinary fees, labor of the farmer, a reduction of fertility, level of involuntary culling, mortality in cows and level of stillbirth. These costs were integrated in a bioeconomic model, considering Basque production and market circumstances of 2005. Due to CE is a categorical trait, the economic value was derived using an underlying continuous scale. Considering the base situation (2.5 % of dystocia), economic value for CE was -13.25 € per liability unit on the underlying standard normal scale, per cow and per calving interval. Consequences of possible changes in market prices of animals and in the incidence of dystocia were analyzed in this study as well. The sensitivity of the economic value is higher to changes of the proportion of dystocia than to changes of market prices. Sensitivity analysis of economic value for CE to changes in price of animals and in incidence of dystocia showed that economic value for CE was quite robust.

Key words: Calving ease, Economic value, Sensitivity analysis

Introducción

La puesta en marcha de un sistema de evaluación genética de sementales para el carácter facilidad de parto (FP) en la Comunidad Autónoma del País Vasco (CAPV) ha permitido la detección de aquellos sementales que provocan problemas de parto (López de Maturana et al., 2003; López de Maturana et al., 2004). Esta información ha facilitado a los ganaderos la elección de los sementales más adecuados sobre todo para su apareamiento con novillas, evitando así problemas distócicos, cuya incidencia en primeros partos es superior a la que existe en partos posteriores (Philipsson et al., 1979). A pesar de que este carácter puede ser controlado, en parte, mediante un manejo adecuado, existen otras herramientas como el uso de diferentes estrategias de selección, cuya implantación puede ser interesante para reducir la incidencia de partos distócicos (Meijering, 1984; Dekkers, 1994). En dicha implantación es importante considerar la naturaleza compleja del carácter, teniendo en cuenta que el carácter FP está determinado genéticamente por la combinación entre un efecto directo (FPD) y un efecto materno (FPM). Tanto en estudios anteriores realizados por el mismo autor (López de Maturana et al., 2003) como en estudios realizados por otros autores (Ducrocq, 2000; Wiggans et al., 2003), se ha obtenido estimas moderadamente negativas para la relación genética entre ambos efectos. Además, otro aspecto importante a tener en cuenta en las estrategias de selección es la naturaleza categórica del carácter.

Dentro de los esquemas de selección, el objetivo de selección debe definirse por una función de los méritos genéticos de los individuos ponderados por los valores económicos de los caracteres (Hazel, 1943) y en este sentido, el cálculo de los valores económicos es un paso importante para la optimización

de los esquemas de mejora (Phocas et al., 1998). En el caso particular del carácter FP, existen diferentes estudios en los que se han estimado los valores económicos para FP (Bekman y van Arendonk, 1993; Dekkers, 1994; Albera et al., 2004) aunque debido a la diferencias entre las condiciones de producción de las diferentes poblaciones analizadas, los valores económicos obtenidos no son comparables.

Los objetivos de este estudio que se presenta a continuación son: 1) calcular el valor económico para el carácter facilidad de parto en la población frisona de la CAPV, y 2) determinar la sensibilidad del valor económico a posibles cambios en los precios de mercado y en la incidencia de partos distócicos en dicha población.

Materiales y métodos

Aspectos generales del modelo

Se definió un modelo bioeconómico para describir el sistema de producción de una explotación lechera media de la CAPV implicada en la producción de leche y en la recría de novillas. Para ello, se asumió que la totalidad de hembras nacidas en el rebaño se mantienen como novillas de reemplazo y que en el caso de los machos, éstos son vendidos con 1 mes de edad. Asimismo, se consideró que tras un desecho involuntario, los animales son enviados al matadero y que la decisión de eliminar algunos animales del rebaño se toma en las últimas etapas de la lactación, permaneciendo en el rebaño hasta que llega el momento óptimo de reemplazo durante el periodo de lactación (van Arendonk, 1988). Por último se asumió que tras el desecho involuntario, los ganaderos deciden introducir una novilla preñada (6-9 meses) en el rebaño.

Datos

Los datos relativos al carácter FP fueron proporcionados por EFRIFE (Confederación de asociaciones de vacuno frisón de la CAPV), mientras que los datos económicos utilizados en este estudio y relativos al año 2005 fueron proporcionados por los servicios de gestión técnico-económica de dichas asociaciones.

Los registros de FP fueron combinados con datos reproductivos y de producción lechera. Todos ellos correspondieron a partos ocurridos entre los años 1995 y 2002.

En la CAPV, la recogida de datos de FP se realiza según lo descrito en Alday y Ugarte (1997). Los partos son clasificados en 5 categorías (1: Sin ayuda; 2: Ligera ayuda; 3: Ayuda necesaria; 4: Cesárea realizada por

un excesivo tamaño del ternero y 5: Fetotomías, posiciones anómalas del ternero o cesáreas realizadas por otras causas). Con el objetivo de desechar datos anómalos, se consideró el mismo proceso de depuración de datos que se realiza en el proceso de evaluación genética de FP (López de Maturana et al., 2003).

Los datos se agruparon en 3 categorías eliminándose los datos correspondientes a la 5ª categoría, puesto que no están afectados genéticamente por el carácter FP. Los partos correspondientes a las clases 3 y 4 fueron agrupados en una sola clase, con el objetivo de minimizar el problema de categorías extremas (Moreno et al., 1997). El porcentaje de partos correspondiente a cada categoría se encuentra en la tabla 1.

Tabla 1. Efectos de las categorías de facilidad de parto sobre diferentes factores del sistema
Table 1. Effects of calving ease categories on system factors

Factores	Sin ayuda 1 27,67 %	Ligera ayuda 2 69,88 %	Distocia 3 + 4 ² 2,51 %
Fertilidad ¹ (nº de inseminaciones)	0	0,19	0,51
Mortalidad (%)	0	0,13	0,50
Desecho involuntario (%)	0	0,15	0,85
Trabajo extra del ganadero (nº de horas)	0	2	20
Muerte perinatal			
Machos (%)	0	0	0,09
Hembras (%)	0	0	0,07

¹Resultados no publicados (López de Maturana et al, 2005) / *Unpublished results* (López de Maturana et al, 2005).

²La proporción de partos en la categoría 4 fue 0,13 % / *The incidence of category 4 was 0.13 %.*

Estimación del valor económico de Facilidad de Parto

Costes asociados a las categorías de FP. La aparición de problemas de parto provoca consecuencias negativas al ganadero, las cuales pueden ser expresadas en términos

económicos. Estos costes están relacionados tanto con la vaca (producción, fertilidad) como con el ternero (producción). En el presente estudio, se calcularon los costes asociados a los problemas relacionados con la dificultad de partos por vaca y tomando

como unidad de tiempo de referencia el intervalo entre partos. Para estimar los costes correspondientes a cada nivel de FP ($C_{t(i)}$) se consideró la siguiente ecuación:

$$C_{t(i)} = C_v + C_g + C_f + C_d + C_{mv} + C_{mp} \quad [1]$$

Donde

C_v , C_g , C_f , C_d , C_{mv} y C_{mp} corresponden a gastos veterinarios, trabajo del ganadero, reducción de la fertilidad, nivel de desecho involuntario, mortalidad en vacas y mortalidad perinatal respectivamente.

La información relativa a gastos veterinarios, trabajo del ganadero, porcentaje de desecho involuntario, mortalidad de vacas y mortalidad perinatal, directamente ligada a dificultades de parto, fue proporcionada por técnicos y ganaderos, debido a que dichos datos no son recogidos de forma separada del resto dentro de los programas de gestión. Para el cálculo de los costes debidos de un empeoramiento de la ferti-

dad, se utilizó una función que relaciona los costes totales de fertilidad (C_f) con el número de inseminaciones (INS). Esta función fue derivada por González-Recio et al. (2004), con datos procedentes de la misma población.

$$C_f (\text{€}) = -18.08 + 41.11 \cdot \text{INS} + 1.91 \cdot \text{INS}^2 \quad [2]$$

Junto a esta función, se tuvieron en cuenta los resultados obtenidos en un estudio previo (resultados no publicados, López de Maturana et al., 2005), en el que se estimó el efecto de cada categoría de FP sobre el número de inseminaciones (INS) necesarias para que la vaca quede gestante en el siguiente ciclo reproductivo.

Los efectos de las diferentes categorías del carácter FP sobre cada uno de los factores del sistema considerados se detallan en la tabla 1, mientras que las variables económicas consideradas en el cálculo de los costes y asociados al modelo de producción se pueden ver en la tabla 2.

Tabla 2. Parámetros del modelo bioeconómico utilizados en la situación base
Table 2. Parameters in the bioeconomic model, considering the base situation

Variables	
Leche (Kg. vaca ⁻¹ lactación ⁻¹)	8969
Grasa (Kg. vaca ⁻¹ lactación ⁻¹)	336
Proteína (Kg. vaca ⁻¹ lactación ⁻¹)	283
Duración de la lactación (días)	325
IP (días)	398
Peso al nacimiento ¹ (Kg. ternero ⁻¹)	40
Precios de mercado y costes	
Precio base de la leche ² (€ Kg. ⁻¹)	305
Terneros de 1 mes de edad (€ Kg. ⁻¹)	151
Vaca adulta (€ u ⁻¹)	1052
Precio en matadero de vacas de desecho (€ u ⁻¹)	601
Novilla preñada de reemplazo de 6-9 m (€ u ⁻¹)	1022
Asistencia veterinaria (€ visita-1 vaca ⁻¹)	60
Cesárea	150

¹ Tomado de Charffeddine (1998) / From Charffeddine (1998)

Los costes ocasionados con respecto a cada categoría de FP fueron incluidos en un modelo teniendo en cuenta la naturaleza umbral del carácter, tal como describió Meijering (1986). Esta metodología, la cual tiene en cuenta la proporción de partos y los costes asociados a cada categoría, ha sido utilizada anteriormente por diversos autores (Bekman y van Arendonk, 1993; Albera et al., 1999) en el cálculo de costes de FP. Así, el coste asociado a cada nivel de FP se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$C = [\Phi(t_2 - \mu) - \Phi(t_1 - \mu)]c_2 + [1 - \Phi(t_2 - \mu)]c_3 \quad [3]$$

donde

$\Phi(t)$: corresponde a la distribución normal estándar acumulada.

$t_1 - \mu$: es la distancia entre el valor de la media y el valor del umbral t_1 , en unidades de la escala subyacente normal estándar.

c_i : son los costes relativos a cada categoría de FP (2: ligera ayuda y 3: parto distócico).

$[\Phi(t_2 - \mu) - \Phi(t_1 - \mu)]$: corresponde a la proporción de animales que se encuentran en la segunda categoría.

$[1 - \Phi(t_2 - \mu)]$: proporción de animales incluidos en la tercera categoría.

Estimación del valor económico de FP

El valor económico de FP puede ser calculado derivando la función de costes descrita anteriormente, mediante la siguiente expresión (Meijering, 1986):

$$\frac{\partial C}{\partial \mu} = -c_2\phi(t_1 - \mu) + (c_2 - c_3)\phi(t_2 - \mu) \quad [4]$$

Donde

$\frac{\partial C}{\partial \mu}$: es el valor económico del carácter FP.

$-c_2\phi(t_1 - \mu)$: es el valor marginal correspondiente a la segunda categoría.

$(c_2 - c_3)\phi(t_2 - \mu)$: es el valor marginal correspondiente a la tercera categoría.

Análisis de sensibilidad del valor económico de FP

Con el objetivo de determinar la sensibilidad de los valores económicos bajo diferentes circunstancias de producción, los valores económicos de FP se estimaron teniendo en cuenta diferentes niveles de cambio en los precios de mercado de los animales y en la incidencia de distocia. Así, ambos parámetros se aumentaron o disminuyeron en un 50 %.

Resultados y discusión

Estimación del valor económico de Facilidad de Parto

En la tabla 3 se detallan los costes totales respecto a cada categoría de FP, expresados en € por vaca y tomando como unidad de tiempo de referencia el intervalo entre partos. En la misma se puede apreciar que el coste asociado a la segunda categoría de FP (ligera ayuda), comparándolo con la categoría 1 en la que se considera que no ocasiona costes, fue de 21,26 € por vaca y por intervalo entre partos. Tal como cabía esperar, el valor del coste asociado a la tercera categoría de FP fue el más alto, 124,73 € por vaca e intervalo entre partos. Otro aspecto a tener en cuenta es que en el cálculo de los costes se ha considerado la proporción que cada efecto presenta en cada uno de las diferentes categorías de facilidad de parto.

El coste medio del carácter, el cual tiene en cuenta la proporción de animales en cada

categoría, los valores marginales correspondientes a cada clase de FP (correspondientes a cada uno de los términos de la ecuación [4]) y el valor económico de FP teniendo en cuenta la situación base (obtenido tras la aplicación de la ecuación [4]) se encuentran en la tabla 4. Cabe destacar que los costes de mano de obra suponen el 40 % de los costes medios ocasionados por los partos de las categorías 1 y 2. La magnitud de la estima para el valor económico de FP en la situación base fue de -13,25 € por vaca, por intervalo entre partos y por unidad de la variable subyacente, la cual sigue una distri-

bución normal estandarizada. Tal y como se esperaba, se trata de un valor negativo, indicando que el aumento de los problemas de parto supone un coste adicional para el ganadero. El valor económico obtenido en este estudio es, en términos absolutos, mayor que el obtenido por otros autores (Dekkers, 1994; Albera et al., 2004). Sin embargo, es necesario considerar que, como se ha indicado anteriormente, no son directamente comparables debido a las diferencias entre los sistemas de producción, precios de mercado y costes considerados en la estimación del mismo.

Tabla 3. Costes (€ por vaca e intervalo entre partos) derivados de los efectos de cada tipo de parto sobre los parámetros del modelo bioeconómico

Table 3. Costs (€ per cow and per calving interval) of each calving ease on parameters considered in the bioeconomic model

Variables	Sin ayuda 1	Ligera ayuda 2	Distocia 3 + 4
Fertilidad¹ (costes)	0	9,26	25,16
Mortalidad			
Precio de la vaca (costes)	0	1,37	5,26
Compra de una novilla de reemplazo (costes)	0	1,33	5,10
Desecho involuntario			
Compra de una novilla de reemplazo (costes)	0	1,53	8,68
Potencial de producción de la vaca (costes)	0	0,68	3,83
Venta de vacas de desecho al matadero (ingresos)	0	0,90	5,11
Costes totales debido a desecho involuntario	0	1,31	7,41
Costes de mano de obra	0	8	80
Gastos veterinarios	0	0	1,62
Mortalidad perinatal			
Machos	0	0	0,09
Hembras	0	0	0,07
Costes totales(€ intervalo entre partos⁻¹)	0	21,26	124,73

¹Tomado de González- Recio et al. (2004) / From González- Recio et al. (2004).

Tabla 4. Costes medios, valores marginales (€ vaca intervalo entre partos¹) y valor económico de Facilidad de Parto (€ por unidad de cambio de la variable subyacente (normal estandarizada) y por intervalo entre partos), considerando diferentes escenarios

Table 4. Average costs (€ per cow and calving interval), marginal values (€ per cow and calving interval) and economic values of calving ease liability per phenotypic standard deviation, in the base situation and for alternative production levels

Sistema de producción	Alternativas	1 ¹	2 ¹	3+4 ¹
Situación base				
Costes medios		0	14,86	3,13
Valores marginales		0	-7,20	-6,04
Valor económico			-13,25	
Precios de Mercado				
	-50%			
Costes medios		0	13,46	2,91
Valores marginales		0	-6,53	-5,64
Valor económico			-12,16	
Precios de Mercado				
	+50%			
Costes medios		0	16,25	3,36
Valores marginales		0	-7,88	-6,45
Valor económico			-14,33	
Incidencia de partos distócicos				
	-50%			
Costes medios		0	14,86	1,62
Valores marginales		0	-7,30	-3,46
Valor económico			-10,76	
Incidencia de partos distócicos				
	+50%			
Costes medios		0	14,86	4,74
Valores marginales		0	-6,86	-8,54
Valor económico			-15,41	

¹Categorías de facilidad de parto: 1: Sin ayuda; 2: Ligera ayuda, 3+4: Distocia / Calving ease scores: 1: No assistance; 2: Slight assistance, 3+4: Dystocia.

Análisis de sensibilidad del valor económico de FP

Las estimas obtenidas para los valores económicos modificando las circunstancias de producción aumentando o disminuyendo en un 50% el precio del mercado de los animales o el porcentaje de partos distócicos se pueden apreciar en la tabla 4. Los resultados indican que el valor económico de FP es más sensible al cambio en la incidencia de partos distócicos produciéndose en este caso un cambio mayor (18%) que cuando se

alteran los precios de mercado de los animales (8% de cambio). La contribución de cada categoría al valor económico de FP también se ve influida por la proporción de datos en cada categoría. En términos absolutos, el valor marginal correspondiente a la segunda categoría es mayor que el valor marginal correspondiente a la tercera categoría para todos los escenarios debido principalmente a la baja proporción de partos tipo 3. Este hecho varía para el caso en el que la incidencia de partos distócicos es 50% mayor que en la situación base en la que

la contribución mayor se debe a esta categoría. Debido a la baja incidencia de partos distócicos en la población objeto de estudio (2,51 %), es necesario que la incidencia de partos distócicos aumente o disminuya de forma muy importante, en un 50 %, para que el valor económico de FP aumente o disminuya en un 18 %. En poblaciones en las que la proporción de partos distócicos fuera mayor, es de esperar que menores cambios en dicha proporción produzcan mayores cambios en las estimas de los valores económicos. Así, en nuestro caso, el valor económico estimado para FP muestra su robustez respecto a posibles cambios en la incidencia de partos distócicos o a cambios en los precios de los animales.

Este trabajo está siendo completado con otros estudios en curso que analizan las ganancias genéticas que se obtendrían sobre el carácter facilidad de parto y sobre los caracteres que actualmente se consideran en el criterio de selección, si en el mismo se introdujera el carácter FP, así como la idoneidad de introducirlo en el criterio de selección. Asimismo, se están realizando los análisis correspondientes para poder introducir dentro de la función de costes los costes derivados de las pérdidas de producción que pudieran ir asociadas a los problemas de FP.

Agradecimientos

El primer autor agradece al Departamento de Animal Breeding and Genetics (Wageningen University) su colaboración en este estudio. También se agradecen la ayuda y comentarios de Piter Bijma.

El presente trabajo se realizó gracias a una beca concedida por el Departamento de Educación, Universidades e Investigación

del Gobierno Vasco a Evangelina López de Maturana.

Bibliografía

- Albera A, Carnier P, Groen AF, 1999. Breeding for improved calving performance in Piemontese cattle-economic value. *Interbull Bulletin*. 23: 1-5.
- Albera A, Carnier P, Groen AF, 2004. Definition of a breeding goal for the Piemontese breed: economic and biological values and their sensitivity to production circumstances. *Livest. Prod. Sci.* 89: 67-78.
- Alday S, Ugarte E, 1997. Genetic evaluation of calving ease in Spanish Holstein population. *Interbull Bulletin*. 18: 21-24.
- Bekman H, van Arendonk JAM, 1993. Derivation of economic values for veal, beef, and milk production traits using profit equations. *Livest. Prod. Sci.* 34: 35-56.
- Charffeddine N, 1998. Selección por mérito económico global en el ganado vacuno frisón en España. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid, Madrid.
- Dekkers JCM, 1994. Optimal breeding strategies for calving ease. *J. Dairy Sci.* 77: 3441-3453.
- Ducrocq V, 2000. Calving ease evaluation of French Dairy bulls with a heteroskedastic threshold model with direct and maternal effects. *Interbull Bulletin*. 25: 123-130.
- González-Recio O, Pérez-Cabal MA, Alenda R, 2004. Economic value of female fertility and its relationship with profit in Spanish dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87: 3035-3061.
- Hazel LN, 1943. The genetic basis for constructing selection indexes. *Genetics*. 28: 476.
- López de Maturana E, Ugarte E, Ugarte C, 2003. Mejora del modelo de valoración genética actual para el carácter facilidad de parto en ganado vacuno frisón. ITEA, Vol. extra, nº 24 (II): 564-566 Zaragoza.

- López de Maturana E, Ugarte E, Ugarte C, 2004. Cambios en la evaluación genética para el carácter facilidad de parto del ganado vacuno lechero en la Comunidad Autónoma del País Vasco. *Sustrai*. 67: 46-49.
- Meijering A, 1984. Dystocia and stillbirth in cattle- A review of causes, relations and implications. *Livest. Prod. Sci.* 11: 143-177.
- Meijering A, 1986. Dystocia in dairy cattle breeding with special attention to sire evaluation for categorical traits. PhD thesis. Wageningen Agricultural University, Wageningen.
- Moreno C, Sorensen D, García-Cortés LA, Varona L, Altarriba J, 1997. On biased inferences about variance components in the binary threshold model. *Genet. Sel. Evol.* 29.
- Philipsson J, Foulley JL, Lederer J, Liboriussen T, Osinga A, 1979. Sire evaluation standards and breeding strategies for limiting dystocia and stillbirth. *Livest. Prod. Sci.* 6: 111-127.
- Phocas F, Bloch C, Chapelle P, Bécherel F, Renand G, Ménissier F, 1998. Developing a breeding objective for a French purebred beef cattle selection programme. *Livest. Prod. Sci.* 57: 49-65.
- van Arendonk JAM, 1988. Management guides for insemination and replacement decisions. *J. Dairy Sci.* 71: 1050-1057.
- Wiggans GR, Misztal I, Van Tassell CP, 2003. Calving Ease (Co)Variance Components for a Sire-Maternal Grand sire Threshold Model. *J. Dairy Sci.* 86(5): 1845-1848. Online. Available: <http://jds.fass.org/cgi/content/abstract/86/5/1845>.

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)

Análisis del progreso genético en el programa de mejora de la raza Assaf de León

M.A. Jiménez*, J.J. Jurado*

* INIA. Departamento de Mejora Genética Animal. Carretera de La Coruña, Km. 7,5. 28040 Madrid.

Resumen

La raza ovina Assaf cuenta con un programa de Mejora Genética puesto en marcha y financiado por la Diputación de León desde 1998. El objetivo de selección se basa en el incremento de la producción de leche por lactación, utilizando como criterio de selección la cantidad de leche producida en 150 días. Tras varios años de funcionamiento y puesta en marcha del programa, se pretende evaluar la eficiencia del mismo analizando la evolución genética anual y la tendencia genética de diversas categorías de animales. Se ha utilizado la información de los rebaños genéticamente conectados (26.721 ovejas con valoración genética) incluida en el catálogo de reproductores de Enero de 2006. La media de los valores genéticos estimados se ha establecido en función del año de nacimiento de los animales productores, a partir de 1996. La tendencia genética es de 4,66 litros/año para el conjunto de las ovejas productoras, con valores genéticos medios superiores a la media de la población en el caso de los machos utilizados como padres. Aún no se aprecia superioridad genética entre las ovejas con padre conocido (5,90 litros/año) y padre desconocido (3,43 litros/año), poniendo en evidencia la escasa diferencia de calidad genética existente entre los machos de Inseminación Artificial y de Monta Natural. El programa de mejora presenta un funcionamiento positivo. Sin embargo, la mejoría experimentada puede ser aún debida a la acción particular de los ganaderos más que al programa desarrollado.

Palabras clave: Tendencia genética, Ovino lechero, Selección

Summary

Analysis of the genetic progress in the Assaf Leon breeding program

The Assaf sheep breed selection program has been implemented by Deputation of Leon since 1998. The breeding goal of the selection scheme is to increase milk production per 150d standardized lactation. The efficiency of the program has been evaluated using genetic evolution per year and different animal genetic trends. The study included connected flock information (26.721 ewes with genetic evaluation) from January 2006. The average estimated breeding values has been established as function of birth year of ewes since 1996. The genetic trend for ewes was 4.66 l/yr and the average estimated breeding values of sires were over the average of population. No genetic superiority was found for ewes with known sire (5.90 l/yr) relative to ewes with unkown sire (3.43 l/yr), showing a scarce difference in genetic quality between artificial insemination and natural service sires. Thus, it can be concluded that there has been a positive evolution of the implemented scheme, despite the improvement could has still been due to individual decisions of the breeder rather than developed scheme.

Key words: Genetic trend, Dairy sheep, Selection

Introducción

El programa de Mejora y Selección Genética de la raza ovina Assaf en la provincia de León se inicia en el año 1998, impulsado y financiado por la Diputación de León. La puesta en marcha y desarrollo de este programa nace de la colaboración entre distintos organismos, entre los que se encuentran la Asociación de Ganaderos de la raza Assaf de León, el Consejo Superior de Investigaciones Científicas de León, el Departamento de Reproducción Animal de la Facultad de Veterinaria de León, y el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias de Madrid. Cada seis meses se realiza la valoración genética de reproductores para producción de leche, utilizando la información recogida a través del control lechero y el registro genealógico de los animales.

El objetivo de selección se basa en el incremento de la producción de leche por lactación, utilizando como criterio de selección la cantidad de leche producida en 150 días, dados los altos niveles de producción de las ovejas de raza Assaf y la persistencia de su lactación (Jiménez *et al.*, 2005) en comparación con otras razas de leche. Las evaluaciones genéticas se realizan utilizando la metodología BLUP modelo Animal con medidas repetidas, usando el paquete de programas BLUP-AM (Jurado, 2003). Hasta el momento se han publicado 8 catálogos, desde mayo de 2002, habiéndose comenzado a calcular de forma regular la tendencia genética a partir del año 2005.

El progreso genético de un programa de selección indica si el valor genético medio de la población ha cambiado en el transcurso de los años en los que se ha practicado la selección, evaluando de esta forma la eficacia del mismo. Tras varios años de puesta en marcha y funcionamiento del programa de mejora de la raza Assaf en León, comienza una etapa en la que se puede esperar obte-

ner un progreso genético anual acorde con las expectativas desarrolladas en esta agrupación. Así, el presente trabajo tiene como objetivo analizar la evolución genética anual y las tendencias genéticas de diversas categorías de animales desde el inicio del programa de selección, con el fin de conocer la eficiencia del esquema desarrollado.

Material y Métodos

Los resultados obtenidos en este estudio se corresponden con la última valoración genética, realizada en Enero de 2006. Se han incluido datos de control lechero desde el año 1991 hasta noviembre de 2005, e información recogida a través de los registros genealógicos desde el inicio del programa y de las campañas de inseminación que comienzan en el año 1998 hasta el 2004. El modelo utilizado en la valoración genética incluye los efectos rebaño-año-estación de parto, tipo de parto, número de lactación, e intervalo entre el parto y el primer control (Jiménez y Jurado, 2005). Como efectos aleatorios se consideran el efecto genético aditivo y el ambiental permanente. Los parámetros genéticos utilizados se han calculado como promedio de los obtenidos en distintas referencias bibliográficas (Bol-Chard, 1989; Bishop y Sullivan, 1994; Wiggans, 1994), y han sido de 0,20 para la heredabilidad y 0,40 para la repetibilidad. Se han incluido grupos genéticos según el año de nacimiento de los animales.

Las características de los datos empleados en la valoración genética se recogen en el cuadro 1. Se ha utilizado un total de 136.784 lactaciones válidas, correspondientes a 49.724 ovejas, lo que supone 2,75 partos por oveja de media. La genealogía está compuesta de 50.211 animales con valor genético (14.127 animales con madre conocida, y 1.321 ovejas con padre conocido

(hijas de Inseminación Artificial (IA)) de 83 machos distintos). Dado que la valoración genética solo es comparable entre animales de rebaños conectados, se han realizado los cálculos de tendencia genética utilizando la

información de 22 rebaños de un total de 56 en control (aquellos que cuentan con 10 hijas de 3 machos diferentes), con un total de 26.721 ovejas con año de nacimiento (de las cuales 1.269 ovejas son hijas de IA).

Tabla 1. Características de los datos empleados en la Valoración Genética (Enero-2006)
Table 1. Features of data used in the Animal Genetic Evaluation (January-2006)

	Control Lechero		Genealogía
Nº Lactaciones	136.784	Nº Animales	50.211
Nº Ovejas	49.724	Nº Animales con madre	14.127
μ	237,70	Nº Madres distintas	10.296
SD	95,30	Hijas IA	1.321
Min	50,30	Machos de IA	83
Max	827,1		

μ : Media. SD: Desviación Estándar. Min: Valor mínimo. Max: Valor máximo. IA: Inseminación Artificial.

La media de los valores genéticos estimados se ha establecido en función del año de nacimiento de los animales productores a partir de 1996 y hasta el año 2003. En el caso de los animales reproductores, la media se ha calculado según el año de utilización del mismo (año en que nacen sus hijos), y se ha ponderado por el número de hijos, refiriéndose, por tanto, a los **reproductores realmente utilizados** (aquellos que transmiten genes a su descendencia) frente al número total de **reproductores disponibles**. Se ha distinguido entre ovejas productoras con padre conocido (hijas de IA) y padre desconocido (hijas de machos de MN), y entre padres positivos (sementales con valor genético superior a +5) y padres negativos (sementales con valor genético inferior a +5). En todos los casos, se ha calculado la tendencia genética como el coeficiente de regresión de la media de los valores genéticos estimados de los animales nacidos en un año determinado sobre una unidad de tiempo (año de nacimiento del animal).

Resultados y Discusión

En la figura 1 se presenta la evolución de las medias genéticas anuales de todas las ovejas productoras (con padre conocido y desconocido) de rebaños conectados. También se muestra la evolución genética anual de los reproductores utilizados (padres y madres de las ovejas). Se observa una tendencia genética de 4,66 litros por año desde 1996 hasta el año 2003, que supone un 1,96% de la media fenotípica general (237,70 litros), y de 3,55 litros por año (1,49% de la media fenotípica general) en los últimos cinco años (1999-2003). Dado que el programa de selección se inicia en el año 1998, la mejora anterior al año 1999 (nacimiento de las primeras hijas de IA) solo puede deberse, bien a la incorporación de material genético procedente del exterior, o bien a la selección hecha por los propios ganaderos. Estos valores resultan superiores a los estimados en otras razas lecheras como la Latxa (2,95 y 2,97 litros/año para los ecotipos Cara Negra y Cara Rubia, respecti-

vamente) (Legarra *et al.*, 2003) y la raza Manchega (0,82 litros/año) (Jurado *et al.*, 2006), que suponen un 2,52% y un 0,84% de la media fenotípica general, respectiva-

mente. La evolución de las medias genéticas anuales de las ovejas productoras es ascendente y uniforme, lo que indica una buena marcha del esquema.

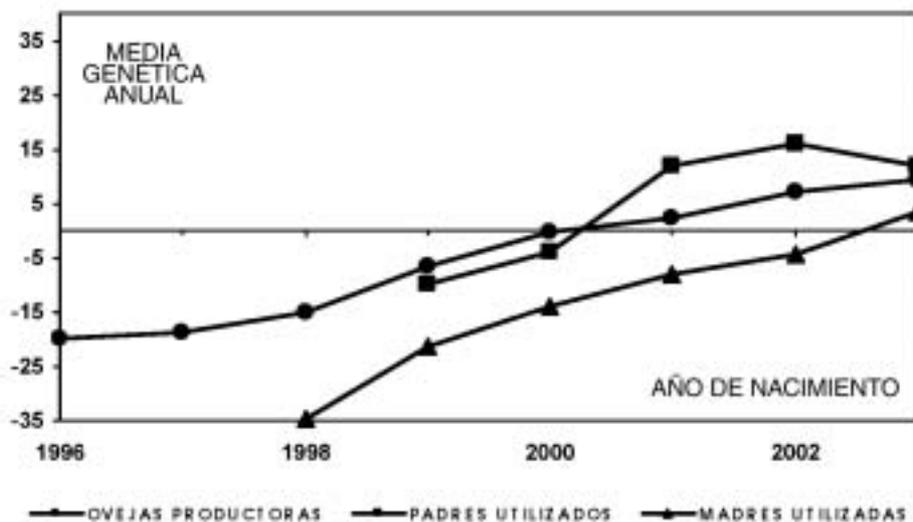


Figura 1. Evolución de las medias genéticas anuales en rebaños conectados.
Figure 1. Evolution of annual average estimated breeding values for connected flocks.

Los machos elegidos y utilizados como padres (figura 1) presentan, inicialmente, un nivel genético similar al de la media de la población en el año 1999, superando estos valores medios en años posteriores (+11,77 en el año 2003). Las hembras con las que se cruzan estos machos son inferiores a la media de la población (+3,32 en el año 2003) lo que indica que los ganaderos no usan sus mejores ovejas para el apareamiento con estos machos.

En la figura 2 se presenta la evolución de las medias genéticas anuales de ovejas con padre y madre conocido, y en la Figura 3 la evolución de las medias genéticas anuales de ovejas con padres desconocidos, así como las medias genéticas de sus madres.

Las medias genéticas anuales de las ovejas con padre conocido son intermedias entre los valores de sus padres (figura 2), como cabría esperar. Se observa una tendencia genética de 5,90 litros por año (ovejas con padre conocido) desde 1999 hasta el año 2003, frente a los 3,43 litros por año en el caso de ovejas con padres desconocidos. Parece evidente que la mejora genética de la raza viene dada por las ovejas hijas de IA. Sin embargo, aún no se aprecia superioridad genética entre las ovejas con padre conocido y desconocido (+9,49 y +6,91 respectivamente, en el año 2002), poniendo en evidencia la escasa diferencia de calidad genética existente entre los dos grupos de

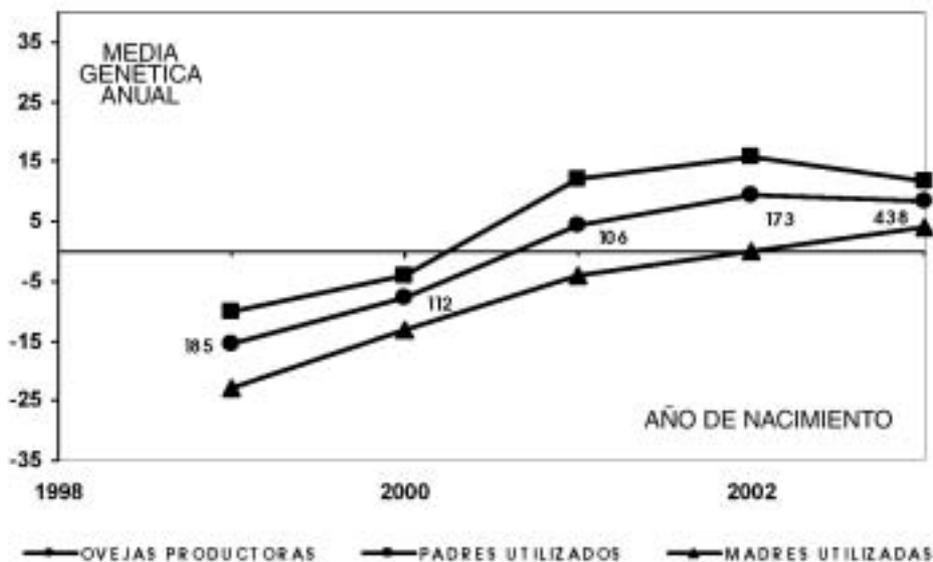


Figura 2. Evolución de las medias genéticas anuales de ovejas con padres conocidos (Número de ovejas con padre conocido).

Figure 2. Evolution of annual average estimated breeding values for ewes with known sire (number of ewes).

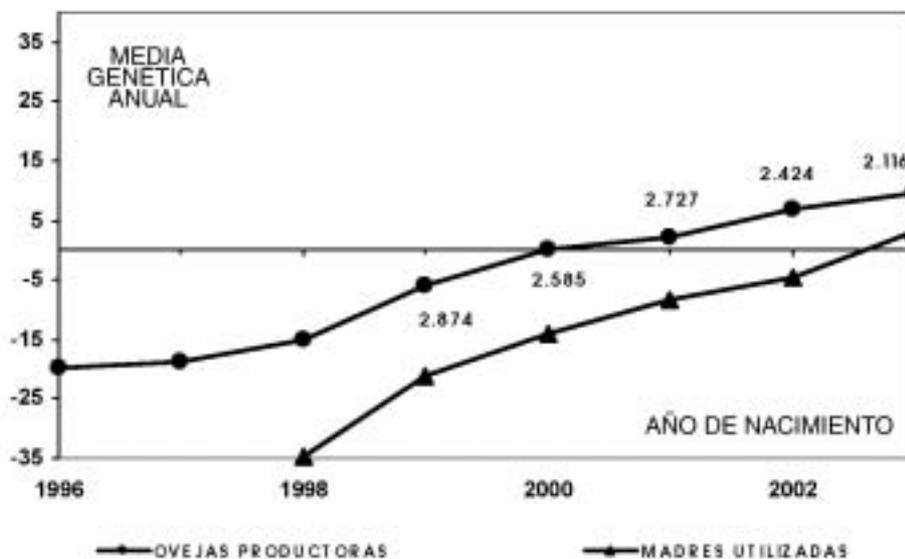


Figura 3. Evolución de las medias genéticas anuales de ovejas con padres desconocidos (Número de ovejas con padre desconocido).

Figure 3. Evolution of annual average estimated breeding values for ewes with unknown sire (number of ewes).

machos utilizados hasta el momento (de IA y de MN).

Por otro lado, la evolución de las medias genéticas de las madres de las ovejas con padres desconocidos (figura 3) transcurre por debajo de los valores de sus hijas, dedu-

ciéndose que los machos de MN, además de subir la media de sus hijas, son de tan buena calidad como los machos de IA (pudiendo deberse a que el programa aún no ha diferenciado entre ambos tipos de machos y a que el número de machos de MN es muy superior al de machos de IA).

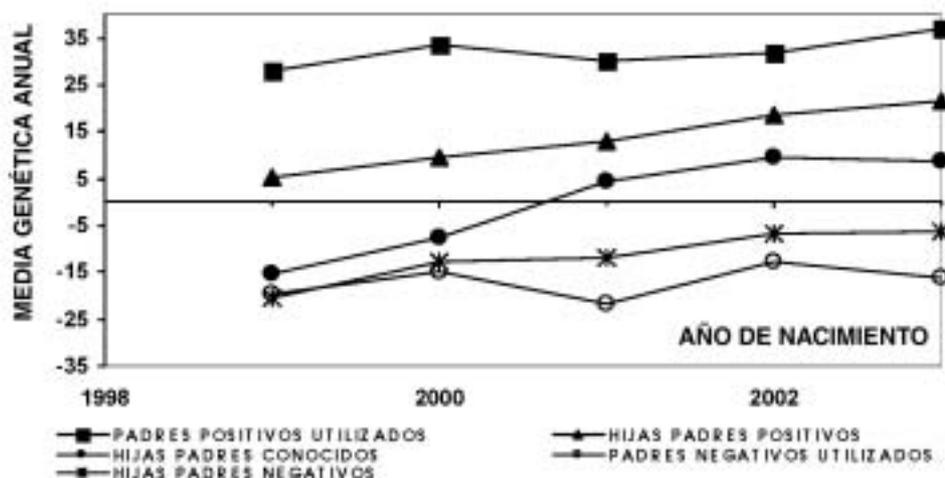


Figura 4. Evolución de las medias genéticas anuales de ovejas con padres conocidos (padres positivos y negativos).

Figure 4. Evolution of annual average estimated breeding values for ewes with known sire (positive and negative sires).

Finalmente, en la figura 4 se presenta la evolución de las medias genéticas anuales de ovejas con padres conocidos. Se ha distinguido entre padres positivos y negativos, y se han incluido las medias genéticas de las hijas según procedan de un tipo de padre u otro. Los padres positivos (aquellos que presentan valores genéticos superiores a +5) producen hijas con valores genéticos superiores a la media de la población (hijas con padres conocidos), ocurriendo lo contrario en el caso de las hijas de padres negativos (en este caso, las madres son las encargadas de subir la media). Se observan escasas diferencias con relación a los valores de tenden-

cia genética entre los padres positivos (1,47 litros por año de 1999 a 2003) y negativos (0,80 litros por año) utilizados. Esto viene determinado por el hecho de que el número de sementales declarados mejorantes es todavía escaso, y un gran número de sementales se encuentran en fase de testaje.

Conclusiones

En general, el programa de selección de la raza Assaf presenta un funcionamiento positivo dados los progresos genéticos y la

evolución de las medias genéticas anuales obtenidas hasta el momento. Sin embargo, no se han detectado diferencias importantes al comparar las hijas de los distintos tipos de machos estudiados, dejando claro que aunque se está modificando el valor genético medio de la población en el transcurso de los años, la mejoría experimentada puede ser debida aún en gran parte a la acción particular de los ganaderos más que al programa de selección desarrollado. Esta tendencia positiva debería mantenerse en los próximos años, consiguiendo progresivamente un mayor número de animales mejorados en el núcleo de selección.

Bibliografía

Bishop S, Sullivan BP, 1994. Proc 5th WCGALP. 18,175-177. Guelph. Ontario (Canadá).

Boichard D, 1989. Genet. Sel. Evol. 21, 205-215.

Jiménez MA, Serrano M, Jurado JJ, 2005. La raza Assaf española en la provincia de León. Situación actual de la raza. ITEA, Vol. 101 (2), 117-128.

Jiménez MA, Jurado JJ, 2005. Esquema de Selección de la raza Assaf en León. ITEA, Vol. Extra 26 (I), 99-101.

Jurado JJ, 2003. Catálogo de Software de Interés en Agricultura. INIA. Madrid.

Jurado JJ, Serrano M., Perez-Guzman M.D., 2006. Análisis del progreso genético obtenido en el esquema de selección de la raza ovina Manchega. ITEA, Vol. 102 (1).

Legarra A, Ugarte E, Arrese F, 2003. Análisis del progreso genético en el esquema de mejora de la raza Latxa. ITEA, Vol. 99^a (3), 192-202.

Wiggans GR, 1994. Proc 5th WCGALP. 18,178-181. Guelph. Ontario (Canada).

(Aceptado para publicación el 2 de mayo de 2006)