

IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS DEL CROMOSOMA Y EN LA ESPÈCIE CAPRINA

Vidal, O.¹, Pérez-Serra, A.¹, Badaoui, B.², Capote, J.³, Martínez, A.⁴, Delgado, J.⁴, Pla, C.¹
y Amills, M.²

¹ Departament de Biologia, Universitat de Girona, Girona 17071; ² Departament de Ciència animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona; ³ Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, La Laguna 38108, Tenerife; ⁴ Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, Córdoba 14071.

INTRODUCCIÓN

Hasta la fecha, los estudios sobre domesticación del ganado caprino se han realizado mediante el análisis de haplotipos mitocondriales, que se han agrupado en 6 linajes y demuestran la existencia de una baja estructura filogeográfica y de al menos dos puntos de domesticación distintos localizados en el Creciente Fértil y el Valle del Indo (Luikart et al., 2001, Naderi et al., 2007). La reciente secuenciación de muestras fósiles del yacimiento de Baume d'Oullen (Francia) ha demostrado la coexistencia de dos linajes muy divergentes (A y C) sugiriendo procesos migratorios muy antiguos (al menos 7.000 YBP) y que afectaban a poblaciones considerablemente alejadas de los puntos de domesticación más probables (Fernández et al., 2006). El análisis de un panel de microsatélites en 1426 cabras de 45 razas Europeas y de Oriente Próximo ha revelado, a diferencia de los estudios con marcadores mitocondriales, la existencia de una cierta estructura poblacional (FST medio = 0.07) y cuatro grupos fundamentales de razas (Oriente Próximo, Mediterráneo Central, Mediterráneo Occidental y Europa del Norte y Central).

Desde un punto de vista poblacional, el análisis del polimorfismo del cromosoma Y resulta de gran interés debido a la ausencia de recombinación y a su reducido tamaño efectivo. Sin embargo, prácticamente no se conoce nada acerca de la variabilidad del cromosoma Y en razas caprinas, habiéndose realizado un único estudio centrado en determinar la filogenia del género *Capra* (Pidancier et al., 2006).

En el presente trabajo, se ha planteado caracterizar el polimorfismo del cromosoma Y caprino mediante la secuenciación parcial de 4 loci en individuos pertenecientes a distintas razas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se obtuvo DNA genómico, a partir de muestras de pelo procedentes de 8 machos de la raza Malagueña, 5 de Murciano-Granadina, 8 de Saanen y 1 macho de raza Tibetana, mediante el kit *Nexttec™ Genomic DNA Isolation* (Nexttec GmbH Biotechnologie, Leverkusen, Alemania).

Cinco pares de primers (ver Tabla 1) fueron utilizados para amplificar las distintas regiones candidatas de los genes *AMELY*, *DBY*, *UTY* y *ZFY*. Los fragmentos amplificados fueron purificados mediante el kit *Illustra™ GFX PCR DNA and Gel Band Purification* (GE Healthcare, Barcelona, España) y posteriormente secuenciados con el *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit* (Applied Biosystems, Madrid, España). Las reacciones de secuenciación fueron analizadas en un equipo *ABI 3130 Genetic Analyzer* de cuatro capilares (Applied Biosystems, Madrid, España), y las secuencias obtenidas se alinearon con el programa Multalin (Corpet 1988) con la finalidad de detectar posiciones polimórficas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En total se han analizado 5 regiones del cromosoma Y, de las cuales 3 presentan polimorfismo (ver Tabla 1). De estos polimorfismos, 2 son cambios puntuales de un solo nucleótido (*single nucleotide polymorphism* o SNP) localizados en la región 3'UTR del gen *DBY* y en el intrón 5 del gen *ZFY*; mientras que el tercero es una delección de 4 nucleótidos.

en una región de repeticiones AT en tándem del intrón 4 del gen *AMELY*. En el conjunto de los animales analizados se ha detectado 3 haplotipos, H1, H2 y H3 (ver Tabla 2).

En un trabajo similar en oveja, Meadows et al. (2006), describen hasta 11 haplotipos distintos en 65 razas de todo el mundo mediante el empleo de cinco marcadores de cromosoma Y. En razas ovinas Europeas, sin embargo, el número de haplotipos se reduce a 4, y en razas ovinas españolas sólo se encuentra un único haplotipo. Aunque en nuestro trabajo el número de individuos y regiones analizadas es menor que el de Meadows et al. (2006), se observa que la diversidad haplotípica detectada en caprino es similar a la descrita en la especie ovina.

Pindancier et al. (2006), mediante la secuenciación de dos regiones de los genes *AMELY* y *ZFY* (diferentes de las analizadas en este trabajo), identificaron dos haplotipos (C1 y C2) en cabras domésticas. Resultados preliminares de secuenciación de esta región *AMELY* en el material animal empleado en el presente trabajo indican que los haplotipos H1 y H3 se corresponden con C1, mientras que H2 se corresponde con C2. Un objetivo de futuro consistiría en ampliar el número de individuos y de razas analizadas, así como secuenciar nuevas regiones de cromosoma Y con la finalidad de detectar nuevos haplotipos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bollongino, R., Elsner, J., Vigne, J.D. & Burger J. 2008. PLoS ONE 3(10):e3418.
- Cañón, J., García, D., García-Atance, M.A., Obexer-Ruff, G., Lenstra, J.A., Ajmone-Marsan, P., Dunner, S., ECONOGENE Consortium. 2006. Anim Genet 37:327-34
- Corpet, F. 1988. Nucl Acids Res 16:10881-10890
- Fernández, H., Hughes, S., Vigne, J.D., Helmer, D., Hodgins, G., Miquel, C., Hänni, C., Luikart, G. & Taberlet P. 2006. Proc Natl Acad Sci 103:15375-9.
- Goetting-Minesky, M.P. & Makova KD. 2006. J Mol Evol. 63:537-44.
- Hellborg, N. & Ellegren, H. 2003. Mol Ecol 12:283-291
- Luikart, G., Gielly, L., Excoffier, L., Vigne, J.D., Bouvet, J. & Taberlet, P. 2001. Proc Natl Acad Sci 98:5927-5932
- Meadows, J.R., Hanotte, O., Drögemüller, C., Calvo, J., Godfrey, R., Coltman, D., Maddox, J.F., Marzanov, N., Kantanen, J. & Kijas, J.W. 2006. Anim Gen 37:444-453.
- Meadows, J.R.S., Hawken, R.J. & Kijas, J.W. 2004. Anim Gen 35:379–385
- Naderi, S., Rezaei, H.R., Taberlet, P., Zundel, S., Rafat, S.A., Naghash, H.R., el-Barody, M.A., Ertugrul, O. & Pompanon, F. 2007. PLoS One 2(10):e1012.
- Naderi, S., Rezaei, H.R., Pompanon, F., Blum, M.G., Negrini, R., Naghash, H.R., Balkiz, O., Mashkour, M., Gaggiotti, O.E., Ajmone-Marsan, P., Vence, A., Vigne, J.D. & Taberlet P. 2008. Proc Natl Acad Sci 105:17659-64.
- Pindancier, N., Jordan, S., Luikart, G. & Taberlet, P. 2006. Mol Phylogenet Evol. 40:739-749.

Tabla 1. *Primers, regiones amplificadas y polimorfismos del cromosoma Y caprino.*

Primer	Cita ¹	Secuencia	Gen	Región primer	Mutación
AMELYF	A	ACTTACACCTCTGAAGTGGTAT	<i>AMELY</i>	Exón 4	Delección
AMELYR	A	CCATCCACCAACGGGTTTCATAG	<i>AMELY</i>	Exón 5	TATA
DBY1F	A	ACACTGGCACTTGAATGTTG	<i>DBY</i>	3' UTR	T>C
DBY1R	A	CCTTGGCATGTTATAGTTTC	<i>DBY</i>	3'UTR	
DBY2F	B	ATGGGRAACATTGARCTTAC	<i>DBY</i>	Exón 7	-
DBY2R	B	GGACCATCTGHATADATCTGAC	<i>DBY</i>	Exón 9	
UTYF	A	ACCGAGAAGCAAGACTAAGGAAG	<i>UTY</i>	5'UTR	-
UTYR	A	GCCATCTTCGTGAAGGTTTCAG	<i>UTY</i>	Intrón 1	
ZFYF	A	CAGGAAATGGATGACAGTG	<i>ZFY</i>	Exón 5	C>T
ZFYR	A	AGCACTTGCAGTGCCACTCCGA	<i>ZFY</i>	Exón 6	

¹ A = Meadows et al. (2004), B = Goetting-Minesky et al. (2006)

Tabla 2. Descripción de los distintos haplotipos del cromosoma Y caprino

Haplotipo	Inserción <i>AMELY</i>	SNP <i>DBY</i>	SNP <i>ZFY</i>	Raza
H1	No	C	T	Saanen
H2	Sí	T	C	MAL, MG
H3	No	C	C	Tibetana

MAL: Malagueña, MG: Murciano-Granadina

Agradecimientos: El presente trabajo se ha financiado mediante los proyectos de conservación de recursos zoogenéticos RZ2007-00005-C02-01 y RZ2007-00005-C02-02 concedidos por el INIA.

IDENTIFICATION OF POLYMORPHISMS IN THE GOAT Y CHROMOSOME

ABSTRACT: Analysis of Y chromosome polymorphisms might provide valuable information about the vents that led to goat domestication and breed formation We have amplified and partially sequenced four loci of goat chromosome Y (*AMELY*, *DBY*, *UTY* y *ZFY*) in goats belonging to Murciano-Granadina, Malagueña, Saanen and Tibetan breeds. Polymorphisms were detected at intronic regions of genes *AMELY* (a tetranucleotide deletion), *DBY* (T>C) and *ZFY* (C>T). These polymorphisms are arranged in three haplotypes (H1, H2 and H3) matching the Y-chromosome haplotype diversity previously found in sheep European breeds (4 haplotypes). A next goal will be to sequence additional individuals and Y-chromosome regions to uncover the existence of additional y-chromosomal haplotypes in goats.

Keywords: goat, Y chromosome, genetic markers, domestication