

INFORME JUSTIFICATIVO PARA EL RECONOCIMIENTO DEL CABALLO DE LAS RETUERTAS COMO RAZA AUTÓCTONA DE PROTECCIÓN ESPECIAL



J.V. Delgado*, J.L. Vega-Plá**, J. Calderón***, C. Rico***, A. Martínez*, A. Cabello****, J.M. León****, M.E. Camacho*****, A. Vallecillo* D. López***

* Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. España

** Laboratorio de Genética Molecular. Cría Caballar. Ministerio del Ejército. España.

*** Estación Biológica de Doñana. CSIC. España

**** Centro de Fomento Pecuario. Diputación de Córdoba. España.

***** IFAPA Córdoba. Junta de Andalucía. España.

PREFACIO

La Sociedad Española para los Recursos Genéticos Animales (SERGA. <http://www.uco.es/serga>) es la organización científica no gubernamental española pionera en los trabajos dedicados a la conservación y utilización de los zoogenéticos españoles.

Desde los años ochenta viene realizando importantes acciones en pro de nuestro patrimonio genético animal centradas en tres campos de la ciencia y la tecnología como son la Zooetnología, la Reproducción Asistida y la Genética Aplicada, todos ellos englobados en el área general de la Producción Animal.

Desde la Zooetnología se han realizado, por parte de los equipos pertenecientes a SERGA, múltiples estudios sobre la descripción de nuestras razas, así como de la definición de su contexto histórico, ambiental, zootécnico y socio-cultural.

La Reproducción Asistida, utilizada como medio y no como fin, nos ha permitido desarrollar múltiples bancos de germoplasma de razas locales por toda la geografía nacional, apoyando también la coordinación y el intercambio de técnicas y experiencias entre grupos de trabajo.

La Genética Aplicada ha aportado mucho para nuestras razas desde dos vertientes. En primer lugar la Genética Molecular nos ha ofrecido una herramienta muy eficaz para la definición de poblaciones (razas, variedades, etc), y además usando unos métodos en los que se ha alcanzado un consenso internacional que nos permite intercambiar información homologable entre países, algo no conseguido hasta ahora con otras fuentes de información como la morfológica y la funcional. El programa MODAD de la FAO y la Internacional Society of Animal Genetics han marcado las pautas de la caracterización genética de sus poblaciones animales, sobre todo para que estos resultados sean reconocibles a nivel internacional.

Por otra parte la Genética Cuantitativa y sus aplicaciones en la Cría Animal o Genética Zootécnica, nos ha permitido planificar esquemas de selección y programas de conservación muy eficaces para nuestras poblaciones autóctonas.

SERGA cuenta hoy con más de 200 socios distribuidos por toda la geografía española organizados en una estructura federal siguiendo el modelo del estado. La autonomía de las secciones autonómicas de SERGA es completa, con la intención de maximizar la cercanía entre los grupos de actuación y los recursos genéticos.

SERGA ha alcanzado un gran reconocimiento internacional, destacando su actuación como Punto Focal Nacional Español en el Programa Global de la FAO hasta el año 2000, su servicio técnico al Ministerio de Agricultura Español en la elaboración del borrador del Informe Nacional sobre la Situación de los Recursos Genéticos Animales, y su coordinación permanente con estructuras extranjeras con fines similares, en el área Mediterránea (España, Francia, Italia, Malta y Portugal), así como a nivel Iberoamericano a través de la Red CYTED XII-H (www.uco.es/grupos/cyted).

Con esta breve introducción sobre lo que es SERGA y cuales son sus objetivos queda clara la vocación de esta Sociedad para la defensa y conservación del patrimonio zogenético español, y en tal sentido SERGA se ha involucrado, siempre sin ánimo de lucro, en la elaboración de informes para la caracterización de poblaciones genéticas diferenciadas (razas, variedades, etc).

En la presente publicación se recoge toda la información disponible para la definición como raza del Caballo de las Retuertas de Doñana, una raza asilvestrada del Sur-Oeste Español, que por estar circunscrita a el área protegida del Parque Nacional de Doñana y carecer de un soporte ganadero propiamente dicho, ha estado en el más completo aislamiento y en permanente situación de riesgo.

SECCIÓN PRIMERA: INTRODUCCIÓN.

En el año 2000 se establece un contacto entre los investigadores de la Estación Biológica de Doñana liderados por el Dr. Juan Calderón y miembros de la Sección Andaluza de SERGA pertenecientes la Universidad de Córdoba, en este caso liderados por el Dr. Juan Vicente Delgado, con la intención de estudiar conjuntamente el ganado vacuno de Doñana, perteneciente a la raza bovina Marismeña.

En aquel contacto el Dr. Calderón comentó la presencia en los espacios protegidos de la Reserva Biológica de Doñana de una población equina diferenciada que deambulaba libremente en total asilvestramiento desde siempre. En la zona se conocían estos caballos como “de las retuertas”, debido a que su carácter hosco sólo permitía su observación directa en las lagunas de agua dulce del área y entre ellas las que se forman en verano en algunas zonas en el límite de las arenas del monte y la arcilla de la marisma, conocidas como “retuertas”, donde se acercaban a beber en esta estación.

Estos animales eran difícilmente justificables en un área de protección biológica, ya que dificultaban las labores de observación y conservación de otras especies silvestres,

especialmente de aves, además de exigir un esfuerzo para la gestión de dicha población. Por esta razón, si no existía una buena razón científica que ofreciera una justificación clara para su permanencia en la Reserva Biológica de estos animales deberían ser eliminados del mismo.

La brillantez del Dr. Calderón y su claro espíritu científico le permitió ampliar las miras más allá, llegando incluso a cuestionarse la posible importancia zootécnicas de estos animales, algo inédito hasta el momento.

En este momento se incorporan al proyecto como especialistas en genética equina, los técnicos del Laboratorio de Genética Molecular (actualmente Laboratorio de Investigación Aplicada) del Servicio de Cría Caballar y Remonta, organismo autónomo del Ministerio de Defensa. El Dr. D. José Luis Vega Pla realiza un estudio de la estructura genética de la población utilizando contrastes genéticos, para detectar el grado de equilibrio de la población y los efectos genéticos que lo alteran, como son la migración, la mutación o la deriva genética.

El Dr. Vega disponía en su laboratorio de información de cientos de miles de caballos pertenecientes a todas las razas nacionales y extranjeras explotadas en España. Además por su pertenencia a la Comisión de Genética Equina de la ISAG disponía de acceso a las bases de datos más prestigiosas mundiales como son las de la Universidad de Davis (USA) y LABOGENA (Francia), lo que le permitía cotejar su información con la de millones de caballos de todo el mundo, utilizando métodos homologados.

Este laboratorio empleó tres tipos de marcadores que se usaban rutinariamente para la caracterización equina, marcadores inmunogenéticos como los grupos sanguíneos, polimorfismos bioquímicos del suero, enzimas sanguíneas y marcadores moleculares específicamente los microsatélites.

Nuestra primera sorpresa nos la dieron los marcadores bioquímicos ya que se apreció, como se describirá más tarde, un alelo nuevo de Caboxilesterasa. Esto quiere decir, que en un grupo de individuos de la población se aprecia un tipo de Carboxilesterasa en principio único en los más de cien mil caballos analizados y después de cotejarlo con otros laboratorios de Genética Equina del mundo, podría ser único de esta raza.

Este descubrimiento a pesar de no ofrecer más allá que una curiosidad de la raza, ya que sólo nos permite decir que cualquier animal que presente este alelo pertenece a la raza, pero no que un animal que no lo presente no pertenezca, sí que resultó un acicate para investigaciones más profundas, y evitaba, al menos temporalmente su erradicación de la Reserva Biológica de Doñana.

En este momento se estableció un equipo multidisciplinar (Genetistas, Zooetnólogos, Evolucionistas, Ecólogos, Historiadores, especialistas en reproducción asistida) y multi-institucional (Universidad de Córdoba, Universidad Complutense de Madrid, CSIC, Diputación de Córdoba, IFAPA y Ministerio de Defensa), con el fin de seguir un protocolo de caracterización de la raza que permitiera, en primer lugar conocerla en profundidad, y en segundo lugar justificar su reconocimiento como raza autóctona española de protección especial por parte del Ministerio de Agricultura, previo estudio y aprobación del Comité de Razas de Ganado de España.

SERGA es una sociedad integrada en el contexto internacional, por tanto sólo sigue y se guía por métodos reconocidos y homologados a nivel global, y cuando estos consensos no existen se rige por criterios y fundamentos científicos acordados y consensuados dentro de la propia Sociedad, como institución de más amplia implantación en el Estado que cuenta con los mejores especialistas nacionales.

Nuestra Sociedad sólo asume criterios y definiciones recomendados por instituciones internacionales en las que toma parte la administración española, como puede ser ICAR, ISAG, FEZ, CYTED y FAO, entre otras.

En todo momento asumimos los criterios conservacionistas expresados por FAO, y valga para documentar esto lo expresado en las Líneas Maestras Primarias y Secundarias para el Desarrollo de Planes Nacionales para la Gestión de los Recursos Genéticos Animales (FAO 1998^a; FAO 1998^b; FAO 1998^c).

En este sentido FAO entiende que una raza es un grupo subespecífico de animales domésticos con características externas definibles e identificables que le capacita para ser separados por una apreciación visual de otros grupos similares definidos dentro de una especie, o un grupo el cual por su separación geográfica y/o cultural de otros grupos fenotípicamente similares ha inducido a la aceptación de su identidad separada.

Esta es una definición bastante amplia, que España ha asumido en tanto en cuanto mantiene representación permanente en FAO y participa en todos sus programas.

SERGA entiende además que en esta definición tienen cabida todas las razas y variedades que actualmente están incluidas en el Catalogo Oficial de Razas de Ganado. Si tenemos otra opinión nos la guardamos para nuestros foros científicos y tratamos de influir en la modificación de dichas definiciones mediante nuestra participación en eventos internacionales. Así lo hizo SERGA hasta el año 2000 cuando representaba a España en el Punto Focal Regional Europeo, y en las recomendaciones que realiza al MAPA en sus colaboraciones habituales.

No creemos que sea prudente en ningún momento asumir criterios excesivamente restrictivos, fundamentalistas y sin reconocimiento internacional en la toma de decisiones, ya que ello nos llevaría por un lado a replantearnos lo ya reconocido, para no caer en agravios comparativos; y por otro lado a aislarnos de las corrientes internacionales.

Desde SERGA creemos que desde donde debe arrancar el reconocimiento es de la identificación por parte de cualquiera (asociaciones, instituciones oficiales, personas físicas) de una población que pudiera entrar en la definición anterior, y en este caso el Caballo de las Retuertas de Doñana lo cumple escrupulosamente.

El segundo paso debiera ser el inicio de un expediente de estudio por parte de las instituciones con competencias administrativas en la gestión del patrimonio zoogenético (MAPA en poblaciones de ámbito nacional, CCAA en aquellas de ámbito autonómico), en el cual deberán apoyarse en instituciones científicas (CSIC, INIA, Universidades) para recabar todas las pruebas posibles para apoyar el reconocimiento. En este caso el Caballo de las Retuertas de Doñana va apoyado por una propuesta de la Junta de Andalucía, única comunidad en la que se ubica la población, y por tanto responsable de la misma.

Este paso debe culminar con la elaboración de un informe que avale y justifique tanto el reconocimiento oficial de la población, como su adscripción a alguna de las categorías del catálogo, cosa de la que nos ocupamos en el presente informe.

A nivel español, hasta ahora se ha actuado, desde nuestro punto de vista, con demasiada laxitud en cuanto a los criterios aplicados para el reconocimiento. Algunas razas se han reconocido con un simple estudio histórico, mientras que otras han tenido que presentar estudios publicados en las revistas científicas más prestigiosas del mundo. Esto ha dejado en el aire alguna vez la sensación de que el reconocimiento dependía mucho más de la oportunidad política o administrativa que de una realidad científica y social, incluso alguna vez ha parecido que la postura de los asesores del comité (SERGA, SEZ, FEAGAS, INIA) dependía de cuestiones personales entre sus representantes.

Por esta razón es importante que se normalicen los criterios de reconocimiento a nivel nacional, pero sin que esto nos coloque por fuera de las recomendaciones de instituciones como FAO y Unión Europea, en cuyos programas estamos integrados.

Para SERGA es necesario:

- 1.- Una justificación de la solicitud basada en cuestiones históricas, culturales y geográficas, aunque bastaría una de ellas para justificar la evaluación.

2.- Una descripción de la raza o variedad propuesta que consistiría en un estudio estadístico de sus características morfológicas, funcionales y genéticas. Debiéndose incluir una caracterización en al menos una de estas fuentes un estudio de discriminación frente a otras poblaciones próximas geográficamente, socialmente, históricamente o por aspecto. La descripción implica tan sólo a la propia raza o variedad, mientras que la caracterización implica la comparación con otras razas o variedades justificadas por razones geográficas, sociales, históricas, etc.

Debemos tener en cuenta aquí que en los aspectos genéticos existen unas recomendaciones precisas de FAO (1999) para proceder a la caracterización de las poblaciones animales, en las que se propone como técnica de elección la utilización de los microsátélites del ADN.

Desde nuestro punto de vista y siguiendo escrupulosamente la definición de raza aportada por FAO, debe hacerse una evaluación global de los informes presentados. Es decir, un informe basado sólo en la morfología que presenta todas las garantías estadísticas puede ser suficiente si cuenta con el aval científico adecuado, al igual que podría ocurrir con informes basados sólo en la funcionalidad o los marcadores genéticos. Incluso, una justificación histórica, social y geográfica adecuada podría ser suficiente.

Desde nuestro punto de vista, que coincide con el de FAO, es preferible un reconocimiento inicial (que puede ser considerado en su momento) que la pérdida de una población genéticamente diferenciada (diversidad genética), llamémosla raza o variedad, porque nos hemos dedicado a estudiarla demasiados años, o porque no se disponía de los medios, o cualquier otra razón.

3.- Finalmente la propuesta preliminar de un prototipo racial o varietal formado por los perfiles morfológico, funcional y genético de la raza o variedad. Decimos preliminar ya que pensamos que el prototipo definitivo, al igual que las normas de gestión del Libro Genealógico, y el programa de gestión genética (mejora o conservación) debe ser propuesto por la asociación u organización de criadores que se proponga para su gestión genética y aprobado por el MAPA o CCAA según los casos, como marca la ley.

Debemos apuntar aquí que desde el punto de vista semántico y en el contexto de la lengua castellana, nuestras definiciones y conceptos deben ser consensuados con el resto de usuario del idioma, como son los países Iberoamericanos. En este ámbito, una de las instituciones que apoyan el presente informe, la Red CYTED XII-H, ha creado una comisión dirigida por el Dr. Lizca de la Universidad de Cochabamba que viene

tratando en los últimos tres años de consensuar entre los 17 países participantes (más de 300 investigadores) una terminología y criterios comunes en el ámbito de la Conservación y Gestión de los recursos Zoogenéticos en lengua castellana y portuguesa. Una vez realizadas estas consideraciones justificamos a continuación las fuentes de información empleadas en la realización del presente informe:

1.-Antecedentes históricos y situación actual. Para la obtención de la información correspondiente se ha realizado una revisión bibliográfica y se han consultado bases de información municipal, autonómica y nacional, además de la información disponible en la Estación Biológica de Doñana (CSIC). Los métodos de análisis son meramente descriptivos y pretenden justificar por un lado la existencia histórica de la raza en su ubicación geográfica actual, por otro realizar un balance de la situación presente de la raza, así como de su papel ecológico, socio-cultural y económico, en este último aspecto haciendo especial mención a una posible utilización económica de estos animales.

2.- Caracterización. En este apartado se dispone de tres fuentes posibles de información, la morfológica, la funcional y la basada en marcadores genéticos.

2.1.- Caracterización morfológica. En este caso se ha realizado una medición de distintas variables zoométricas de naturaleza cuantitativa, utilizadas en distintos estudios publicados en revistas de ámbito internacional. Las variables se han elegido teniendo en cuenta su poder de discriminación y la posibilidad de medición eficaz teniendo en cuenta el carácter asilvestrado de los animales.

Al no existir un protocolo homologado a nivel internacional para este fin, ni existir recomendación alguna por parte de FAO u otras instituciones de importancia, en este caso hemos seguido los protocolos propios publicados por Delgado y cols. (2001) en el Boletín de Información sobre Recursos Genéticos Animales de FAO, en su trabajo “Caracterización de los Animales Domésticos en España”.

2.2. Caracterización Funcional. Al tratarse de animales asilvestrados y no estar sujetos a procesos zootécnicos en la actualidad, en este punto se careció de información funcional objetiva. Por tanto sólo se aporta un análisis descriptivo de las características observables en estos animales sin apoyo estadístico alguno. De todos modos tampoco existe en este caso un consenso internacional sobre los protocolos de actuación.

2.3. Caracterización basada en Marcadores Genéticos. En este caso se ha realizado primariamente un análisis de marcadores bioquímicos, utilizando métodos

homologados por la ISAG a través de pruebas internacionales de comparación entre laboratorios.

En segundo lugar se realizó un estudio de marcadores microsatélites siguiendo las recomendaciones de FAO (FAO 1998a; FAO 1998b; FAO 1998c), en el seno de un laboratorio homologado a nivel internacional por ISAG. En este último caso se realizó un estudio de distanciamiento genético respecto a otras razas, para topografiar la situación de la población estudiada en su contexto genético, algo imprescindible para su caracterización.

3.- Conclusiones. Utilizando todo el compendio de información apuntada anteriormente, se extraen en este punto una serie de conclusiones, contrastadas científicamente que apoyan el reconocimiento del Caballo de las Retuertas de Doñana como una raza Autóctona Española de Protección Especial.

4.- Documentos de Apoyo. Siguiendo la definición de raza propuesta por FAO, el reconocimiento social podría ser suficiente para reconocer una raza como tal, de ahí la importancia de este último apartado, en el que múltiples instituciones, desde asociaciones de criadores, administración andaluza, diputaciones, universidades, CSIC, ONGs, etc, expresan su apoyo al reconocimiento de esta raza.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS Y SITUACIÓN ACTUAL

Para comenzar el tratado histórico de los antecedentes del caballo de las Retuertas de Doñana, debemos decir que tras la publicación de nuestros descubrimientos genéticos sobre esta raza en revistas científicas internacionales de máximo impacto, así como más recientemente en la prensa general, han sido muchos los interesados en conocer más profundamente esta raza, incluso investigadores como el Dr. Arzuaga que se ha dirigido a nosotros para realizar trabajos en colaboración tratando de establecer paralelismos genéticos entre el ADN fósil de equinos salvajes recuperados de los yacimientos de Atapuerca y el actual caballo de las Retuertas.

Frecuentemente se suele cometer el error de tratar los aspectos históricos de las razas domésticas actuales de acuerdo a los criterios zootécnicos actuales, sin darnos cuenta que nuestras razas en la mayor parte de su pasado no estuvieron en un contexto tecnológico como el que actualmente disfrutamos. Como se apunta en el párrafo inicial la relación entre humanos y equinos en la península ibérica se remonta a nuestra prehistoria y se enmarca en el binomio cazador-presa.

Según el International Museum of the Horse (IMH, 2007) el primer équido conocido hasta el momento es el Eohippus, se calcula que tiene aproximadamente unos 55 millones de años de antigüedad. El fósil de este ejemplar fue descubierto en Norteamérica en 1867. Medía unos 30 centímetros, con almohadillas en las patas (cuatro delante y tres detrás) y habitaba en las zonas selváticas y los pantanos. Estos équidos se extendieron por Europa en el Eoceno.

Estos animales se fueron adaptando a los distintos ecosistemas dando lugar a distintos grupos taxonómicos: el Mesohippus que era un poco mayor, tenía tres dedos en cada pata y una dentadura más eficiente que le permitía comer una vegetación más variada. Existió hace 25 a 40 millones de años, el descendiente de este ejemplar es el Miohippus, después el Merychippus, éste tenía cierto parecido al burro, con la diferencia de que poseía un dedo mayor en el centro, lo cual le ayudaba a alcanzar gran velocidad y recorrer grandes distancias.

El Dinohippus y el Pliohippus fueron las primeras especies unguladas, los dedos laterales habían desaparecido, existió hace dos a cinco millones de años.

Los équidos desaparecieron del continente americano hace unos ocho mil años siendo reintroducidos por los españoles en el siglo X, formándose una gran amalgama de razas criollas de gran valor zootécnico actual..

En etapas posglaciares los grupos sobrevivientes comenzaron a extenderse desde Asia hasta Europa y África siendo los antecesores del caballo actual, conocido como *Equus caballus*.

Su evolución reciente corresponde principalmente a cuatro tipos básicos, de los cuales descienden las razas existentes:

- El caballo del bosque de tipo sólido, con cabeza y cascos grandes, es muy posible que fuera el fundador de los caballos de sangre fría y razas de tiro.
- El caballo de la meseta, de tipo más fino, descienden los pequeños y resistentes caballos mongoles semisalvajes.
- El caballo de la estepa, de un tipo más ligero, originó las razas orientales, como el árabe.
- El caballo de la tundra de tipo grande y pesado, como el Yakut proveniente de las regiones polares.

Existen evidencias de que el caballo fue domesticado hace cinco o seis mil años, los primeros en intentar la domesticación del caballo fueron las tribus nómadas, a medida que viajaban a través de las regiones de los mares Caspio y Negro. La domesticación de

caballo como actividad se data por tanto, en unas épocas mucho más recientes a las de los pequeños rumiantes.

Centrándonos en la península Ibérica, debemos de hablar por un lado de la introducción del caballo, y por otro de la introducción de las practicas domesticadoras.

Los recursos que actualmente poseemos poseen una base evolutiva de dos tipos. En todo el noroeste nos encontramos múltiples razas de tipo Celta, entendiendo por tales a los animales que muestran similitudes con otros grupos genéticos tradicionales del Centro y el Norte de Europa. Por otra parte en el área Meridional de la Península Ibérica nos encontramos unos recursos que pudiéramos considerar propiamente Ibéricos, cuyos principales representantes son, sin duda, el Pura Raza Español y el Lusitano, pero al que también pertenecen otras razas como el Marismeño, el Soraya y el propio Retuertas de Doñana.

¿Esto quiere decir que sobre nuestras razas no hay influencia africanas?. Por supuesto que no. Lo que queremos decir es que los caballos Ibéricos contaban con una gran fama entre las civilizaciones que conquistaron la península por el Sur. Tanto Romanos como Árabes usaron los recursos equinos locales mayoritariamente, hasta el punto que los portaron hacia sus tierras de origen.

Sin duda algunas importaciones externas afectaron a las poblaciones Ibéricas, pero su base genética era local.

Debemos recordar que en aquellos tiempos no existía el concepto de raza y que los animales se hibridaban continuamente fruto de las conquistas y los movimientos de las civilizaciones, por tanto todas las razas que conocemos son fruto de la dinámica genética establecidas por la producción animal en las distintas épocas.

De hecho, las razas Soraya y Retuertas de Doñana, probablemente sean, de las mencionadas, las que presentan un menor interés comercial, pero debido a su aislamiento y abandono a través de los siglos, sin duda poseen el mayor interés biológico, ya que mantienen la relación más cerrada con las poblaciones históricas, debido a que han mantenido en buena parte de su evolución reciente una sistemática cría asilvestrada, es decir no sometida a la mano del hombre.

Ya centrándonos en la explotación equina en el área de distribución actual del caballo de las Retuertas de Doñana, debemos hacer referencia al libro de Muñoz Bort (2004) en el que se realiza una presentación histórica impecable de la producción equina en el suroeste español en periodos históricos, expresada como justificación de la práctica ancestral de la “Saca de las Yeguas” en la Villa de Almonte.

Ya en las páginas iniciales Muñoz hace referencia a la importancia de los équidos Ibéricos en las épocas Romana y Visigoda, resaltando el papel de los animales procedentes de la Bética y Lusitania en las carreras de carros. Este autor corrobora la decadencia temporal de estos équidos meridionales tras las invasiones nórdicas de la península, probablemente debida a la importancia que atesoraron los caballos béticos introducidos por los pueblos nórdicos.

En el periodo musulmán la relevancia de los recursos genéticos Ibéricos localizados en áreas meridionales de la península se recupera, especializándose los grandes latifundios ubicados en las Marismas del Río Guadalquivir en la producción de potros que eran seleccionados y comercializados hacia las áreas de mayor poder económico y político en Córdoba y Granada.

Probablemente ya en estas fechas pudieran estarse formando esbozos de lo que hoy conocemos como razas, que en aquel momento se entendía como especializaciones animales para hacer frente a la demanda comercial. Es decir ya se podrían estar formando unos caballos de élite que podrían ser la base de los actuales Pura Raza Española y Lusitano, mientras que en manos del pueblo llano pudieran mantenerse animales del mismo tronco pero más especializados en el trabajo y de peor calidad estética. Por supuesto estos últimos nunca eran descritos en las crónicas.

Tras la reconquista la producción equina en la Marisma sufrió una profunda reorganización, con no pocos conflictos por la utilización de los pastos, si bien en esta época se alcanza el reconocimiento Real de los caballos andaluces, dotándolos de una protección especial.

Sin duda en estas épocas la evolución zootécnica de los animales ya había concluido la formación dentro de los caballos Ibéricos (meridionales), alguna diferenciación entre los animales de valía comercial y los animales destinados al trabajo.

Esto quedó evidente por un suceso que aconteció en el primer viaje de Colón a las Indias en 1492 (Rodero y cols. 1992). Al parecer el Almirante adquirió diez yeguas y diez caballos enteros para portarlos a las Indias, con intenciones defensivas. Estos animales fueron exhibidos en Sevilla con gran alarde, pero cuando el Almirante observó los animales que se habían cargado escribió su gran decepción ya que en la estiba habían sido sustituidos por unos “pencos matalones” locales. Probablemente estos pencos serían caballos Ibéricos rurales, próximos a los antecesores del Caballo de las Retuertas de Doñana.

Estos caballos intervinieron en la formación de las razas criollas latinoamericanas actuales, pero junto con animales más selectos enviados con posterioridad. Aunque en las razas asilvestradas americanas y en manos de indios y campesinos siguen existiendo animales de mucha proximidad morfológica con el caballo de las Retuertas de Doñana, las cuales estamos estudiando con marcadores genéticos en la actualidad, existiendo ya algunos avances publicados (Vega-Pla y cols. 2006).

En siglos posteriores surgen y se mantienen conflictos permanentes por el aprovechamiento de los pastos, entre la administración y los ganaderos de las Marismas, ya que la cría extensiva de caballos y de otras especies exigía de buenos pastos que no siempre eran suficientes.

Lo cierto es que el caballo andaluz, hoy integrado como Español ya en esas fechas comenzaba a definirse como raza, de acuerdo con los criterios modernos de la misma, mientras que otras poblaciones en manos de las clases trabajadoras aun seguían bajo un manejo anárquico en el que su definición se basaba en aislamientos geográficos.

Rodero y cols. (1992) ya apuntan en su trabajo como en el siglo XV sólo un reducido número de poblaciones animales mantenían una clara diferenciación, entre ellas destacaban el Cerdo Ibérico, la cabra Granadina, el ovino Merino y el caballo Español (Andaluz). Sobre el resto de poblaciones españolas no existían referencias o cuando aparecían eran imprecisas desde el punto de vista de la descripción racial.

De esta forma, cuando hacemos un recorrido histórico por los antecedentes de las razas actuales, aparte de los cuatro casos apuntados, sólo podemos hacer referencia a precursores de las razas actuales, y en muchos casos haciendo uso de una gran especulación.

Desde nuestro punto de vista y centrándonos en el caballo de las Retuertas de Doñana, podemos localizar sus antecedentes en esos caballos de trabajo que se utilizaban en la Marisma para la labores del campo especialmente en áreas encharcadas. Por tanto formando parte del mismo tronco que el caballo Español, éste ya se había diferenciado en el siglo XV como una población bien definida, con unas directrices de cría claras, al estar en manos de clases pudientes y militares, mientras que el caballo de la Marisma no se había definido.

Por supuesto poco se parece el caballo Español actual con aquel animal del siglo XV. Probablemente un caballo como el de las Retuertas de Doñana, sometido a un manejo genético mucho menos exigente, si mantenga un parecido más directo.

En los siglos XVI y XVII la competencia por los pastos con el ganado vacuno se intensificó en gran medida en el área de las Marismas, debido a cuestiones socioeconómicas, lo que produjo una cierta retracción de la producción equina de las Marismas, si bien se mantuvo su riqueza secular.

En el siglo XVIII se produce un punto de inflexión en la cría equina que comienza ya que la influencia de la ilustración llega a la cría equina. Muñoz Bort (2004), en su libro apunta que en este siglo la cría caballar tradicional integra “los nuevos vientos de la modernidad y la crítica racional”, haciendo referencia al año 1791 como año en el que el Ministerio de la Guerra nombró a Pomar como Comisionado que “recorra todas las provincias de España, empezando por las Andalucías ; examine é informe el estado en que se hallan las yeguas respectivas , sus pasos ó dehesas, caballos padres, y lo que en el día se practica ó convenga practicar para su adelantamiento y mejora, por ser su Real voluntad dar fomento á este ramo , y que sea lucrativo al paso que se aumente el número de caballos par todo servicio y transporte á que son aplicables...”. Podemos entender que a partir del informe presentado por Pomar al Ministerio de la Guerra, entonces competente en la cría caballar, se iniciaron una serie de actuaciones que estimularon la diferenciación de las razas que hoy en día pueblan nuestro país.

En los siglos XIX y XX acontecen en la región de las Marismas algunos hechos importantes para la cría caballar. En primer lugar muchas áreas de pastos se transformaron en regiones de alto valor cinegético con el nacimiento de lo que se conoce como Coto de Doñana. Esto produjo una restricción de la cría caballar con los sistemas tradicionales. Esto favoreció la intensificación de la cría equina en la región, lo que unido a la influencia de los programas de mejora equina del ejército mediante las famosas paradas de sementales, probablemente supusiera la separación del Caballo Marismeño, del Caballo de las Retuertas de Doñana.

El Marismeño quedó en manos de los ganaderos que fueron mejorando su estructura y conformación haciéndolo un animal más comercial y funcionalmente competitivo, mediante el uso de sementales españoles y de otras razas foráneas. La fijación de estos cruzamientos ha dado lugar al actual Caballo Marismeño, recientemente reconocido por el Ministerio de Agricultura como raza Autóctona Española de Protección Especial.

Los estudios genéticos desarrollados por nuestro equipo definen a esta raza como muy próxima al actual caballo español y detecta las mencionadas influencias de razas extranjeras, aunque se aprecian individualidades dentro de esta raza con gran

paralelismo genético con el caballo de las Retuertas de Doñana, como comentaremos más adelante, que justifican sus relaciones filogenéticas de base.

El caballo de las Retuertas de Doñana, por su parte, comenzó su proceso de asilvestramiento, debido por un lado al abandono de las tareas agrícolas a favor de las cinegéticas, y a la mecanización del campo. Estos caballos quedaron deambulando con muy escaso o ningún manejo por parte de sus dueños por los pastizales de Doñana, Muñoz Bort (2004) en su interesante libro cita literalmente a Chapman y Buck (1910) refiriéndose a estos caballos mostrencos que se encuentran en la región diciendo “la escasa población de Doñana incluye unos cuantos vaqueros que vigilan el ganado vacuno y los caballos que vagan en estado semisalvaje por la zona de monte bajo y en la marisma abierta”.

Estos animales citados a principios del siglo XX tras la declaración del Parque Nacional quedaron recluidos en las áreas más protegidas del Parque y más concretamente en la Reserva Biológica de Doñana, la cual está compuesta por dos fincas que pertenecen a la Estación Biológica de Doñana (CSIC) con 7.000 y 3.000 ha (el Coto y Guadimar), cercadas y separadas por otra intermedia. Estas dos fincas tienen el estatus de Reserva Científica y mantiene grandes medidas de control.

Por tanto podemos decir que esta raza se encuentra emparentada en origen con el Caballo Marismeño formando parte del mismo tronco que el Caballo Español. Pero mientras el caballo Marismeño muestra todavía una gran heterogeneidad genética fruto de los recientes cruzamientos que han dado lugar a su configuración actual, el caballo de las Retuertas de Doñana se aprecia muy uniforme y extremadamente adaptado a su vida asilvestrada. Algo evidente a nivel morfológico y funcional, que se ha contrastado a nivel genético como veremos en capítulos posteriores.

Dentro del funcionamiento de la Estación Biológica de Doñana ha existido en las últimas décadas una controversia sobre estos animales, ya que mientras algunos estudiosos del mundo salvaje no entendían muy bien cual era el papel de los animales domésticos dentro de un espacio protegido, en el que ocasionan molestias a las nidificaciones e interactuaban negativamente con la fauna salvaje, como portadores de patologías a la vez que compiten por el alimento, otro grupo de científicos comprendía con claridad el papel de los animales domésticos en una región que fue pastoreada por animales domésticos desde tiempos de los Tartesos.

Investigadores liderados por el Dr. D. Juan Calderón deseaban conocer la importancia de esos animales que desde siglos atrás vivían integrados en el ecosistema en absoluto

equilibrio, y estimuló su estudio para encontrar razones para su conservación o para su erradicación.

El Dr Calderón, a la espera de resultados fehacientes y ante la gran amenaza que se cernía sobre estos animales implantó un programa de conservación sobre la escasa población existente que consistió en la absorción con sementales puros de una población situada en la finca de Guadamar.

Tabla 1: Animales puros ubicado en la finca del Coto, distribuidos por edades y sexos.

CABALLOS DE LAS RETUERTAS PUROS (78)	Adultos	Nacidos en 2005	Nacidos en 2006	Nacidos en 2007	TOTAL
Machos en el Coto	2	1	3	8	14
Machos en Guadamar	4				4
Machos en Córdoba		3	1		4
TOTAL MACHOS	6	4	4	8	22
Hembras en el Coto	32	7	11	5	55
Hembras en Guadamar					0
Hembras en Córdoba			1		1
TOTAL HEMBRAS	32	7	12	5	56

Tabla 2: Animales implicados en el programa de recuperación en la finca de Guadamar, distribuidos por edades.

Hembras con sangre de las retuertas, no puras (62)	Adultos	Nacidos en 2005	Nacidos en 2006	TOTAL
1/2 Retuertas	10		1	11
3/4 Retuertas	21	13	4	38
7/8 Retuertas	7	3	3	13
TOTAL	38	16	8	62

De tal manera que en la actualidad nos encontramos con una población de 78 animales puros (con perfil genético contratado molecularmente), 56 yeguas y 22 machos situados en la finca del Coto (Tabla 1). Por otro lado nos encontramos con una población de 62 yeguas en Guadamar con distintos niveles de sangre (tabla 2). En este último lote los descastes son siempre realizados sobre los animales que presentan un menor nivel de pureza. En algunas décadas esta población estará completamente absorbida por el Caballo de las Retuertas de Doñana.

Puede observarse como a pesar del pequeño tamaño de la población su tamaño efectivo es esperanzador debido al elevado número de machos que se mantienen en pureza. El

Caballo de las Retuertas sólo teniendo en cuenta la población pura muestra un tamaño efectivo de 61, lo que le sitúa en alto riesgo de extinción, pero en una situación menos dramática que otras razas. Por ejemplo una raza con censos de 700 hembras y sólo dos machos, presentaría un tamaño efectivo de 8, mucho más amenazador.

Tenemos que precisar que el programa de conservación de esta raza es tedioso y lento debido a que la población equina esta restringida a un número concreto de animales no pudiendo incrementar la población.

Los animales están todos identificados y que su genealogía está contrastada con marcadores del ADN. Por tanto cualquier influencia genética reciente de animales externos a estas poblaciones está descartada.

Calderón (2006. comunicación personal) expusieron que “en cuanto se dispuso de machos, se llevaron a la Reserva de Guadimar, donde debían actuar como sementales, en un programa de recuperación de la raza, cruzándose con una veintena de yeguas de Pura Raza Española de la zona. Se ha continuado desde entonces con cruces por absorción, con esos mismos machos, y con otros que se han ido llevando posteriormente provenientes del Coto. Se persigue con ello evitar los efectos futuros de la endogamia y disponer de una población que pueda ser empleada para socorrer al núcleo criado en pureza en el Coto”. Este programa como hemos comentado anteriormente se esta desarrollando bajo un estricto control y siguiendo un proceso de recuperación similar al que ha utilizado nuestro equipo en la recuperación de una raza porcina presente en el Catálogo de razas de Ganado de España como es el Chato Murciano (Poto y col. 2006).

La separación entre el caballo Marismeño y el Caballo de las Retuertas de Doñana, se llevó a cabo por la influencia sobre los caballos locales de caballos españoles y de otras razas extranjeras hasta formar el Marismeño actual, el cual muestra un gran nivel de heterogeneidad y polimorfismo, mientras que el caballo de las Retuertas ha permanecido en régimen de asilvestramiento bastante al margen de la selección artificial y los cruzamientos.

De cualquier manera, el Caballo Marismeño es hoy una gran raza reconocida oficialmente que presenta un potencial zootécnico del que carece el Caballo de las Retuertas, que si atesora un extraordinario interés biológico y evolutivo, ya que según nuestros resultados genéticos, probablemente se trate de una de las razas más antiguas de la Península, al menos en lo que respecta a los recursos equinos meridionales.

Actualmente una de las cosas que más nos preocupa es la conservación de la variabilidad genética suficiente dentro de la raza para asegurar su supervivencia. Para

ello además de la recuperación del lote de Guadiamar, recientemente hemos sido financiados con un proyecto del INIA que nos va a permitir desarrollar un banco de germoplasma que ya ha comenzado con el desplazamiento a la Diputación de Córdoba de cuatro potros para ser sometidos a recogida de semen, y de una yegua para comenzar con la congelación de embriones. En ambos casos se proyecta la duplicación del banco en el Banco Nacional sito en el CENSYRA de Colmenar Viejo (Madrid).

Otra excelente noticia a este respecto es la complicidad de la Asociación de Criadores de Ganado Marismeño en la conservación de este animal lo que ya ha implicado a algunos ganaderos para criar algunos ejemplares fuera del Parque y comprobar así su capacidad como animal doméstico.

CARACTERIZACIÓN

Los grupos genéticos diferenciados, sean razas u otras estructuras subraciales como las variedades, estirpes, ecotipos, etc, deben poseer unas características heredables que los identifican entre sí y los diferencian frente al resto de la especie a la que pertenecen.

La identificación de esas características es lo que conocemos como caracterización, y el conglomerado de características que definen a las poblaciones se conoce como patrón racial.

Tradicionalmente, desde que Backewell, en la Inglaterra posterior a la Ilustración, impusiera sus criterios zootécnicos y con ellas el concepto de raza tal y como lo entendemos hoy, se entendió que la caracterización de las poblaciones animales era eminentemente morfológica. En este sentido, se establecía un paralelismo con los métodos de actuación de los taxónomos en Biología.

Desde Linneo las identificaciones taxonómicas de las especies se apoyaban estrictamente en los caracteres morfológicos cualitativos y cuantitativos, y así se fueron catalogando las especies conocidas.

La etnología animal o zooetnología se basó en la caracterización morfológica para identificar las razas y demás estructuras genéticas. Si bien, a diferencia de los taxónomos, los etnólogos tenían en cuenta también características funcionales, aunque sólo cuando existía la posibilidad de realizar un control de rendimientos, que no era siempre.

Hasta el primer tercio del siglo XX las herramientas morfológicas y funcionales eran las únicas a nuestra disposición y con ellas se establecieron los elencos raciales de los países.

En este momento debemos decir que a pesar de ser España cuna de ilustres Zooetnólogos, como el destacable Dr. Aparicio Sánchez, nuestro país se incorpora tarde a la etnología moderna, ya que hasta principios del siglo XX nuestras razas eran definidas más por criterios geográficos y culturales que por morfología y funcionalidad. Hasta los años treinta, en las exposiciones nacionales de nombraban a las razas por toponimia. Por ejemplo se hablaba de la raza bovina Andaluza, con sus variedades roja, negra y cárdena; sin duda se referían a las razas actuales Retinta, Negra Andaluza y Cárdena Andaluza, animales muy bien diferenciados en origen y apariencia.

Como quiera que fuera el último tercio del siglo XX fue toda una revolución en la caracterización racial de los animales domésticos, al igual que en el mundo salvaje, los científicos consiguieron acceder a algunos caracteres genéticos que eran neutros, es decir que permanecían al margen de la mano del hombre en su dinámica genética, no se veían afectados por la selección artificial.

Primero fueron los polimorfismos bioquímicos, luego los marcadores inmunogenéticos como los grupos sanguíneos y los antígenos del Sistema Mayor de Histocompatibilidad, pero lo que supuso un gran avance fue la aparición en escena de los marcadores moleculares y en especial los microsatélites.

Estas herramientas genéticas nos permitieron realizar una caracterización molecular de las poblaciones y con esto surgió tanto a nivel zootécnico como biológico en general una nueva consideración en clasificación de especies y de razas. Incluso podemos hablar de ciertos conflictos entre los morfólogos y los genetistas. Algunas especies que se habían considerado diferentes durante siglos, eran reducidas a la categoría de subespecies y a veces ni eso. Del mismo modo algunas razas consideradas diferentes quedaba demostrado que eran la misma.

También poblaciones que se habían clasificado como diferentes pasaban a ser consideradas como iguales.

Podemos decir que tras la aplicación de los marcadores genéticos neutros muchas cosas “no era lo que parecían” y esto creó algunas controversias.

Hoy en día, por tanto, contamos con tres fuentes de información objetiva a la hora de diferenciar poblaciones genéticas entre sí, las tradicionales morfológicas y funcionales además de las modernas basadas en los marcadores genéticos. Podemos asegurar que

ninguna de ellas es nada sin el resto. Es necesario contar con información global en estos tres sentidos para conseguir una eficaz caracterización racial.

Los criterios de SERGA sobre todo lo explicado hasta el momento fueron presentados internacionalmente en la publicación de Delgado y Cols. (2001) titulada "Caracterización de los Animales Domésticos en España" publicada en la revista AGRI-FAO.

En esta posición de SERGA se recomienda no diferenciar entre las caracterizaciones genética y la morfológico-funcionales, ya que realmente la caracterización de una población (raza o variedad) utilizando las medias y desviaciones típicas obtenidas en una muestra aleatoria y simple de la mencionada población, supone el establecimiento de la media de la expresión genética del carácter, y por tanto, la caracterización racial es siempre una caracterización genética y lo que conocemos como caracterización genética es realmente una parte de ella que se basa en marcadores genéticos (bioquímicos, inmunológicos y moleculares).

Al margen de esta caracterización genética de las poblaciones, FAO da amplísima importancia a la caracterización cultural, ya que defiende en su definición que es posible reconocer a una raza como tal, tan sólo por la consideración cultural de un pueblo y una tradición, incluso por encima de los criterios objetivos como los apuntados más arriba.

Como quiera que en el caso que nos ocupa, el Caballo de las Retuertas de Doñana en sus facetas histórico-culturales ha quedado perfectamente definido y caracterizado en el apartado anterior, a continuación pasamos a exponer su caracterización genética en sus tres apartados, morfológico, funcional y mediante marcadores genéticos.

Para realizar esta caracterización hemos seguido los protocolos generales asumidos por la Sociedad Española para los Recursos Genéticos Animales, que coinciden con los aplicados en la Red Iberoamericana sobre la conservación de la Biodiversidad de los Animales Domésticos Locales para el Desarrollo Rural Sostenible (Delgado y cols. 2001). Podemos hablar de más de 200 miembros en España y por encima de los 300 implicados en 17 países Iberoamericanos y observadores, todos ellos grandes científicos especialistas en conservación de recursos Zoogenéticos implicados en los Puntos Focales Regional Europeo y Sudamericano dentro del programa de FAO. Entendemos que esto avala los criterios utilizados en el presente informe frente a los propuestos por organizaciones nacionales minoritarias en nada integradas en el contexto internacional.

Antes de comenzar con la descripción de nuestros resultados sobre el caballo de las Retuertas de Doñana, deseamos diferenciar entre dos conceptos que solemos confundir,

que son descripción y caracterización. La descripción implica tan sólo una descripción de los estadísticos centrales y dispersivos obtenidos de un muestreo correcto de una determinada población, con esto conseguimos definir su perfil genético, bien sea morfológico, funcional o basado en marcadores. La caracterización conlleva una comparación con otras poblaciones en el contexto histórico, cultural y geográfico de la población estudiada además de alguna población control, para conseguir su diferenciación frente al resto de su especie.

Debemos tener en cuenta que sólo la caracterización basada en marcadores nos permite realizar comparaciones directas utilizando información obtenidas en distintos laboratorios sobre distintas poblaciones, ya que existen convenciones internacionales patrocinadas por instituciones de prestigio como FAO e ISAG.

Los caracteres funcionales a pesar de estar muy bien definidos en cuanto a su medición, con protocolos internacionalmente asumidos, propuesto por el ICAR (Internacional Committee for Animal Recording), la naturaleza de los caracteres nos exige la obtención de las mediciones por parte del mismo operario, con los mismos instrumentos de medida y bajo las mismas circunstancias, algo imposible en este tipo de caracteres. Por tanto para realizar comparaciones interraciales funcionales es necesario que toda la información haya sido recogida por el mismo equipo, de acuerdo a los mismos protocolos.

Algo similar ocurre con las características morfológicas. No existe ningún tipo de convenio internacional sobre los protocolos a seguir, y aunque los hubiera la naturaleza de los caracteres exige la obtención de toda la base muestral para el estudio de discriminación por parte del mismo equipo y con las mismas condiciones.

ASPECTOS MORFOLÓGICOS

Delgado y cols.(2001) recomiendan el siguiente protocolo para la caracterización morfológica de las poblaciones de animales domésticos:

- Diseño del muestreo y plan de mediciones.
- Creación de bases de datos.
- Cálculo de estadísticos descriptivos.
- Análisis de la Varianza para cada variable entre las poblaciones implicadas en el estudio.

- Análisis discriminante canónico.
- Establecimiento de distancias de Mahalanobis entre poblaciones.
- Construcción de Clusters con las relaciones filogenéticas estimadas mediante las distancias.

La aplicación de estos siete pasos concluiría con la caracterización morfológica de la población, mientras que la utilización de sólo los tres primeros pasos nos daría la descripción morfológica de la raza.

Nosotros hemos realizado sólo la descripción de la raza ya que sólo hemos medido animales pertenecientes a la población en estudio y como hemos mencionado con anterioridad las mediciones realizadas por grupos diferentes no son homologables para un estudio conjunto.

La caracterización morfológica del caballo de las Retuertas de Doñana se realizó en dos fases, en una primera se muestrearon 25 individuos mayores de tres años (16 hembras y 9 machos) publicándose los resultados preliminares (Vega-Pla y cols. 2005), añadiéndose posteriormente en el seno del proyecto de la convocatoria de Recursos Genéticos de Interés Agroalimentarios del INIA las medidas de otras 16 hembras y dos machos más. Pudiendo decir que en la actualidad se ha medido el total de la población de animales puros y disponemos de un perfil morfológico muy claro y eficaz para el apoyo del programa paralelo de absorción que estamos desarrollando.

Debemos puntualizar aquí que las mediciones se realizaron en condiciones de gran dificultad para los operarios y para los animales, debido al carácter de los animales y a las escasas condiciones existentes para realizar esta labor en la Estación Biológica de Doñana. La experiencia se saldó con tres bajas de potrillos en los animales, algo muy grave teniendo en cuenta la pequeña población existente.



Figura 1. Detalle de las mediciones zoométricas de los caballos en condiciones de gran dureza.

Se recogieron cuatro características de tipo cualitativo: Perfil fronto-nasal, color de la capa, color de las mucosas y tipo de pelos, así como catorce variables cuantitativas, elegidas de acuerdo a su significación en la definición racial y por la capacidad de medición correcta teniendo en cuenta el carácter asilvestrado de los animales.

Las variables cuantitativas fueron las siguientes:

Alzada a la cruz. Distancia desde el suelo hasta el punto más alto de la cruz (Región ínterescapular). Tomada con Bastón zoométrico.

Alzada al medio de la espalda. Distancia desde el suelo hasta el punto más declive de la espalda. Tomada con bastón zoométrico.

Alzada la grupa. Distancia desde el suelo hasta el punto más alto de las tuberosidades internas del ileon. Tomada con bastón zoométrico.

Alzada la inserción de la cola. Distancia desde el suelo hasta la parte superior de la inserción de la cola. Tomada con bastó zoométrico.

Longitud de la grupa. Distancia entre el borde anterior de la tuberosidad iliaca externa y la tuberosidad isquiática. Tomada con compás.

Longitud de la cabeza. Distancia desde el punto más culminante de del occipital al más rostral del labio maxilar. Tomada con compás.

Anchura de la grupa. Máxima distancia entre los bordes anteriores de las dos tuberosidades ilíacas. Tomada con compás.

Anchura de la cabeza. Distancia entre los puntos más prominentes de los arcos zigomáticos. Tomada con compás.

Diámetro longitudinal del cuerpo. Distancia entre el punto más craneal y lateral de la articulación escápulo-humeral y el punto más caudal de la tuberosidad isquiática. Tomada con bastón zoométrico.

Diámetro dorso-esternal. Distancia entre el punto más declive de la cruz al borde ventral del esternón, detrás del codo. Tomada con bastón zoométrico.

Diámetro transversal del cuerpo. Máxima amplitud del tórax a la altura de la quinta costilla y por detrás del codo. Tomada con bastón zoométrico.

Perímetro recto del tórax. Longitud medida alrededor del cuerpo a la altura del punto más declive de la cruz, ambos costados y el esternón, pasando por detrás del codo. Tomada con cinta.

Perímetro de la caña. Medida de la circunferencia alrededor del metacarpo en su tercio superior.

Perímetro del casco. Medida de la circunferencia alrededor de la parte proximal del casco.

A continuación pasamos a presentar nuestros resultados tanto en cuanto a las características cualitativas como a las cuantitativas.

El análisis de los faneros cabos y extremos no dio una gran uniformidad ya que el color de la capa casi en su totalidad fue Castaño (94,5%), si bien se apreciaron tordos en el restante 5,5%. Como vemos a este nivel la homogeneidad de los animales fue casi total. La pigmentación de las mucosas siempre fue oscura y el tipo de pelos es fino y corto. El perfil frontonasal fue siempre subconvexo.

En la tabla 3 presentamos los estadísticos descriptivos obtenidos del análisis de las catorce variables morfológicas cuantitativas estudiadas. En todos los casos se apreció unos valores promedio en los rangos de la especie para caballos de este tipo de sangre y unas medidas de dispersión, desviación típica y coeficiente de variación porcentual, que destacaron la gran uniformidad de los animales, tanto machos como hembras. De cualquier forma el dimorfismo sexual fue evidente, con una superioridad de los machos en la mayoría de las medidas.

VARIABLES	Media machos cm.	Desv. típica machos	CV %	Media hembras cm.	Desv. típica hembras	CV %
Alzada a la cruz	145.33	2.74	1.89	140.44	3.22	2.29
Alzada a la mitad de la espalda	138.25	3.58	2.59	137.25	4.45	3.24
Alzada a la entrada de la grupa	139.25	4.65	3.34	139.75	4,27	3.06
Alzada a la inserción de la cola	125,75	7.05	5.6	125.88	6.41	5.09
Longitud de la grupa	48.63	2.33	4.79	48.50	2.00	4.12
Longitud de la cabeza	49.44	2.07	4.19	48.80	1.32	2.70
Anchura de la grupa	45.63	3.34	7.32	49.25	1.77	3.59
Anchura de la cabeza	24.56	1.31	5.33	20.80	1.01	4.86
Diámetro longitudinal del cuerpo	142.78	3.56	2.49	145.94	6.55	4.49
Diámetro dorso-esternal	65.44	2.30	3.51	66.94	2.29	3.42
Diámetro transversal del cuerpo	45.00	3.66	8.13	45.44	2.26	4.97
Perímetro recto del cuerpo	171.75	7.11	4.14	174.81	5.17	2.96
Perímetro de la caña	18.22	0.95	5.21	17.55	0.91	5.19
Perímetro del casco	34.23	1.31	3.83	32.64	1.02	3.13

Tabla 3: Medias, desviaciones típicas y coeficientes de variación porcentual obtenidos de las mediciones de machos y hembras de la raza equina caballo de las Retuertas de Doñana.

Debemos destacar, de cualquier modo, que las medidas zoométricas presentan una fuerte influencia del medio ambiente, tanto con efectos temporales (estado nutritivo del animal), como permanente (circunstancias durante el crecimiento), y también de los

efectos de muestreo expresados por defectos de la medición en especial en razas asilvestradas con la que aquí estudiamos.

De acuerdo con nuestros resultados concluimos el siguiente estándar racial para el caballo de las Retuertas de Doñana.

Aspecto general.

Es un animal eumétrico, mediolíneo y subconvexo, que presenta un marcado dimorfismo sexual. El cuerpo de estos animales es armónico con un aspecto elegante y de movimientos fuertes, rítmicos y elásticos. En todo momento muestra su carácter asilvestrado con gran integración en su contexto medioambiental.

Cabeza.

El tamaño de la cabeza está proporcionado con el resto del cuerpo mostrando un tamaño medio, del mismo modo la longitud y la anchura de la cabeza se muestran equilibradas. El perfil fronto-nasal es subconvexo y termina en un hocico acuminado. Las orejas son ligeramente cortas móviles y bien insertadas. La frente es plana y no muy ancha. Los ojos muestran una gran expresión y las órbitas no son prominentes. La cara es larga con ollares no muy evidentes. Los labios son gruesos y los mentones prominentes.

Cuello

La anchura y longitud de del cuello es media, está bien insertado en el tórax y mantiene una cierta curvatura en la parte superior. Se manifiesta una robustez superior en los machos que en las hembras, pero siempre manteniendo la armonía.

Tronco

El tronco se aprecia bien desarrollado con máximo equilibrio entre los tercios posterior y anterior en ambos sexos. La espalda es de corta a media en longitud, con apariencia fuerte y redondeada. La cruz y el costillar son amplios y profundos además de bien musculados. La línea inferior del tórax corre horizontal. Los lomos son de mediana longitud, bien desarrollados y musculados. La grupa es redonda y ligeramente derribada. De manera natural la inserción de la cola es baja.



Figura 2. Imágenes del caballo de las Retuertas de Doñana desarrollándose en su medio.

Extremidades

Presenta muy buenos aplomos en ambos sexos. Las extremidades están bien musculadas, pero mantienen la armonía con el resto del cuerpo. Los antebrazos largos bien musculados se prolongan hasta los hombros prominentes y largos. Las rodillas son planas y bien definidas. La caña es ligeramente corta mostrando un tendón muy bien definido. Los corvejones están bien distinguidos también con fuertes tendones, con gran compacidad de la piel que la cubre y con una ligera mayor angulación que otras razas de sangre templada. El casco es fuerte, redondo y de buen tamaño.

Capa, piel y pelo

Predominantemente castaña apareciendo con frecuencia un mosqueado blanco sobre la capa, presenta también tordos mosqueados.

Características del comportamiento

El comportamiento de estos animales es muy diferente cuando se crían en condiciones asilvestrada que cuando lo hacen en condiciones domésticas. En el pasado, cuando era frecuente su cría para el trabajo eran animales tranquilos, nobles aunque rústicos; mientras que en condiciones de asilvestramiento son muy excitables ante la presencia humana y muestra una gran dificultad de manejo. En todo caso muestra movimientos armónicos y gráciles con intensa elevación de las extremidades, pero también con moderadas extensiones, ofreciendo pasos largos y rítmicos.

En la actualidad se comportan como caballos salvajes, tomando actitudes defensivas de grupo ante la presencia del ser humano. De manera común se organizan en grupos llamados tropas que son dirigidos por un semental líder, el cual expulsa del grupo a cualquier macho que pueda alterar su dominio. Este comportamiento ha protegido a estos animales del cruzamiento, ya que algunas intromisiones del exterior de la reserva siempre han concluido con la expulsión inmediata del intruso, sin dejarlo fertilizar a hembra alguna. Incluso llegan a dañar físicamente a cualquier macho que intenta discutirle su preponderancia.

Las hembras mantienen su fidelidad al líder mientras este domina, siendo casi imposible la formación de nuevas tropas con hembras adultas.

A pesar de compartir ancestros con el caballo español y el Marismeño, muestra una gran diferenciación con respecto a estas razas. Al carecer de demanda comercial debido a su aspecto primitivo y ambiental su distribución queda restringida en la actualidad a las áreas protegidas de la Reserva Biológica de Doñana, donde se constituye en un elemento más del ecosistema.

Además es de resaltar que a ojos de los expertos, existen grandes similitudes morfológicas entre estos animales y muchas razas Latinoamericanas. De entre ellas podemos destacar el Mustang Americano, el caballo Andino, el Caballo Nordesteño Brasileño, el Marajoara, y también los criollos Argentino y Uruguayo. Esto es muy

destacable ya que no contamos en la Península Ibérica ninguna raza con similitudes tan claras con respecto al caballo de las Retuertas de Doñana.

En el presente estudio nos hemos quedado en la descripción de la raza ya que para su caracterización sería necesario incluir en el estudio, animales pertenecientes a otras razas del contexto histórico, cultural y geográfico del Caballo de las Retuertas de Doñana. En todo momento las medidas debieran realizarse por los mismos operarios y bajo condiciones homogéneas. Esto es difícil de conseguir, sobre todo teniendo en cuenta las razas Latinoamericanas que debieran ser tenidas en cuenta.

De cualquier forma en el estudio de marcadores moleculares se apoya todo nuestro trabajo de caracterización de una manera extensa, eficaz y sobretodo con métodos englobados en los convenios internacionales que ofrecen resultados utilizables en cualquier laboratorio del mundo sometido a pruebas internacionales de comparación.

Aspectos Funcionales

Sin duda este es el aspecto más propiamente zootécnico de la descripción y caracterización de las poblaciones de animales domésticos, bien se trate de razas o de estructuras subraciales como variedades, ecotipos, etc. Un animal doméstico no sólo queda definido por sus características morfológicas y por marcadores genéticos, como las poblaciones salvajes. A los animales domésticos además se les exige unas peculiaridades funcionales que los diferencia frente al resto de la especie a la que pertenece.

Dicho de una forma coloquial “un animal puede tener el aspecto de una determinada raza, pero si no produce lo que se espera de él, no pertenece a dicha raza”.

Nuestro equipo recomendó (Delgado y cols 2001) un protocolo de actuación para la caracterización funcional de las poblaciones de animales domésticos, revisando los métodos aplicados por los principales equipos de especialistas de nuestro país. Nuestras recomendaciones se centraban en los siguientes puntos:

- Diseño del muestreo y plan de mediciones.
- Creación de bases de datos.
- Cálculo de estadísticos descriptivos.

- Análisis de la Varianza para cada variable entre las poblaciones implicadas en el estudio.
- Análisis discriminante canónico.
- Establecimiento de distancias de Mahalanobis entre poblaciones.
- Construcción de Clusters con las relaciones filogenéticas estimadas mediante las distancias.

Como vemos se trata de un protocolo idéntico al propuesto para la caracterización morfológica ya que existe un gran paralelismo entre la naturaleza de las variables estudiadas y los objetivos perseguidos en el estudio. Por tanto, al igual que planteamos en el epígrafe anterior la aplicación de los tres primeros puntos sería suficiente para describir a una raza o variedad, pero para concluir su caracterización sería necesario comprobar su situación con respecto al resto de los grupos que forman la especie, o al menos con respecto a los que se le presume una relación histórica, cultural o geográfica, en lo que podríamos llamar su contexto.

Existe una gran inquietud mundial por el establecimiento de métodos homologables a nivel internacional para el estudio de las producciones de los animales. Para ello se hizo necesario el establecer una serie de convenciones a las que se han ido adhiriendo los distintos estados. En este aspecto debemos destacar el papel de FAO (1998c) que propuso una serie de medidas generales para el control de rendimientos y además justificó su utilización para la caracterización y descripción de las razas.

De cualquier forma es Comité Internacional para el control de Rendimientos animales (ICAR; www.icar.org), el que se ha encargado de homogeneizar los criterios aplicados en los distintos países para estos menesteres de una manera específica e intensa.

ICAR (2007) se define como una organización internacional para la estandarización de la identificación, el control productivo y la evaluación de los animales de granja. Para ello emite normas que son asumidas por todos los países firmantes del acuerdo, entre ellos España.

La caracterización funcional de los animales se basa en la obtención de los perfiles genéticos poblacionales a partir de la medición de los fenotipos de caracteres productivos en una muestra aleatoria y simple de la población bajo estudio.

Por esta razón nos referimos a ICAR con tanta intensidad, ya que en la mayoría de las especies domésticas, para desarrollar una caracterización funcional admisible oficialmente en nuestro país, sería necesario seguir los criterios de un acuerdo que nuestros gobernantes han firmado y que están recogidos en las normas de ICAR (ICAR, 2007). Pero en el caso de la especie equina no es posible ya que no existe una convención internacional que defina los criterios de recogida de información funcional.

Esta ausencia de directrices nos obliga a realizar la evaluación de funcionalidad equina de una manera dispar y no coordinada, lo que de partida nos confiere una gran dificultad para homologar y validar los resultados obtenidos a nivel internacional e incluso dentro de los equipos que trabajamos en equino dentro de nuestro país.

De cualquier modo se justifica dicha ausencia de consenso por las siguientes razones:

- La mejora genética equina siguiendo criterios modernos esta en ciernes
- Existe una disparidad extrema de funcionalidades
- La mayor parte de las producciones de los caballos en la actualidad responden a aptitudes psico-físicas muy difíciles de medir.
- No existe ningún tipo de coordinación a nivel nacional e internacional.

De cualquier modo si es difícil caracterizar funcionalmente a los caballos criados en condiciones domésticas, tanto a nivel individual como poblaciones, que podemos decir de una raza como el caballo de las Retuertas de Doñana que se mantiene en condiciones de asilvestramiento total en los últimos 50 años, y manteniendo parte de su población asilvestrada desde hace 200 años.

Como es lógico suponer, a una raza como el Caballo de las Retuertas es muy difícil haberla sometido a test de aptitud funcional alguno, por razones obvias, aunque se disponga de referencias como la utilización de estos animales en el pasado como animal de trabajo, en el entorno de Doñana. Por tanto, para su caracterización funcional nos limitaremos a apuntar las apreciaciones de los expertos, sin poder presentar ningún soporte estadístico de nuestras propuestas.

Caracteres etológicos

Los individuos pertenecientes al caballo de las Retuertas de Doñana cuando son observados en su ambiente salvaje se presentan como unos animales perfectamente integrados en el medio y a la forma de vida silvestre. Su comportamiento es absolutamente ancestral.

Se organiza por “tropas” de yeguas gobernadas por un semental maduro, admitiendo la presencia de algunos machos jóvenes en actitud de subordinación. Muestran un comportamiento de defensa frente al ser humano, adquiriendo las tropas una formación defensiva ante la presencia del ser humano, que consiste en un agrupamiento de las yeguas manteniendo las crías en medio, y un avance del macho líder en actitud hostil, llegando incluso al ataque.

Este tipo de comportamiento es único en los equinos españoles, y sólo ha sido referido en las razas asilvestradas Americanas (Spoonenberg, comunicación personal).

Por el contrario, cuando los animales son mantenidos en condiciones domésticas, como ocurría en el pasado, se destacaba en ellos una gran aptitud para el aprendizaje de las tareas agrarias, mostrando una excelente resistencia, nobleza y tranquilidad.

En la actualidad, estamos comenzando un estudio dirigido por el Dr. D. Alberto Villa, especialista en Etología Animal de la Universidad de Córdoba, para conocer en profundidad el peculiar comportamiento de este caballo en libertad, ya que es una oportunidad única de conocer el comportamiento de los ancestros del caballo doméstico.

Además el Dr. Villa, evaluará la capacidad de estos animales para el trabajo en distintas funcionalidades domésticas.

Aires

Se trata de un animal harmónico y equilibrado que ha modelado su físico para integrarse en un ambiente muy peculiar y hostil, como son las llanuras encharcadas y marismas.

Por ello sus movimientos son gráciles y ágiles a pesar de mantener todas las exigencias que le pone su medio ambiente.

En los tres aires se destaca la armonía y belleza de los movimientos de este animal, destacando la elevación intensa de las extremidades aunque manteniendo una

extensión moderada de los miembros. En algunos momentos recuerda en la distancia algunos de los movimientos del caballo español y del paso fino peruano, ya que de forma natural y ausente de entrenamiento presenta unos pasos largos y rítmicos.

Funcionalidad potencial

Atendiendo a su tamaño, su carácter y sus movimientos peculiares, así como su capacidad para la doma, acompañados de su extrema adaptación al medio se nos sugiere la posibilidad de utilizar estos caballos como un aliciente más para el turismo ecológico que visita Doñana y su entorno, así como para el uso personal de los investigadores de distintas áreas que se mueven diariamente en el parque.

Por supuesto este uso doméstico se llevaría a cabo con los animales sobrantes de los censos admitidos en el seno del parque, y como medio para potenciar su programa de conservación.

Marcadores genéticos

Dentro de los criterios utilizados para la caracterización racial de los animales, los marcadores genéticos son expresión de modernidad y eficacia, si bien, como ya expusimos con anterioridad, por sí solos no aportan nada. Sin duda la utilización de estos métodos para la contratación de observaciones externas basadas en criterios morfológicos y funcionales es imprescindible.

Hoy en día no se justifica de ningún modo que una caracterización racial no venga acompañada de un estudio de esta naturaleza, ya que es la única forma objetiva de comprobar que las propuestas morfológicas y funcionales de diferenciación son ciertas.

Este tipo de caracterización se basa en la detección del polimorfismo en la expresión genética de fragmentos activos del ADN en forma de proteínas o enzimas y también en la observación directa del polimorfismo de fragmentos hipervariables del ADN. Se entiende como polimorfismo como la existencia en las poblaciones estudiadas de variantes en la forma, pero no en la naturaleza de las estructuras estudiadas.

La ventaja de estos caracteres frente a los funcionales y morfológicos es que no se ven y por tanto son neutros a la selección artificial, algo de sumo interés para observar la

diferencia real entre poblaciones y no sólo la inducida por el ser humano, que atañe a una pequeña parte del genoma.

Con esto podemos aclarar como dos poblaciones aparentemente similares son realmente muy distantes, o por el contrario, como dos poblaciones aparentemente distintas mantienen una identidad genética muy grande. Por ello la caracterización basada en marcadores moleculares supone la prueba definitiva para considerar una raza o una variedad como tal o no.

Al contrario de lo que ocurre con los caracteres funcionales y morfológicos, los marcadores moleculares cuentan con una convención internacional que permite que la información generada en un laboratorio sea homologable y utilizable en otros laboratorios de todo el mundo, siempre que estos estén sometidos a test de intercomparación. Esto ha permitido que instituciones de gran prestigio mundial como FAO e ISAG hayan implantado protocolos de actuación que son seguidos por todos los laboratorios importantes del mundo, donde podemos destacar el programa MODAD (FAO 1998a) y los resultados de los test de intercomparación bianuales (comparison test) de ISAG.

Para el caballo de las Retuertas de Doñana la realización de una descripción morfológica y funcional como la aportada aquí y el complemento de una profunda caracterización basada en marcadores genéticos que se expondrá en el presente apartado lo constituyen como una de las razas mejor definidas del panorama español, además acompañada de un reconocimiento internacional refrendado con dos publicaciones internacionales del más alto nivel basadas mayoritariamente en estos contenidos (Vega-Pla y cols 2005; Vega-Pla y cols. 2006).

El Laboratorio de Genética Molécula de Cría Caballar era el responsable de la realización de los controles genealógicos de las razas equinas nacionales en España. Esta práctica se realizó durante años apoyándose en la utilización de polimorfismos bioquímicos y grupos sanguíneos, manteniendo una base de datos importante con decenas de miles de individuos tipificados de todas las razas equinas españolas y muchas internacionales.

En años más recientes y siguiendo los avances internacionales se implantaron los métodos basados en la utilización de marcadores moleculares y más especialmente los microsatélites, como herramienta recomendada a nivel mundial para el control genealógico. Las exigencias prácticas hicieron que el laboratorio se pudiera rápidamente al día con las muestras de progenitores anteriores conservadas y las nuevas certificaciones exigidas, haciendo que en un breve espacio de tiempo el laboratorio fuera también con decenas de miles de animales tipificados con este tipo de marcadores.

Por supuesto un laboratorio como este que emite informes internacionales tenía que estar homologado a nivel internacional, por lo que siempre participo en los test de intercomparación desarrollados en el seno de ISAG y por ello sus resultados eran homologados automáticamente por los diez laboratorios de Genética Animal más importantes del mundo, siendo nuestro laboratorio uno de ellos.

Teniendo en cuenta los mencionados antecedentes, cuando el Dr. D. Juan Calderón se dirigió al Grupo de investigación PAI-AGR-218 de la Universidad de Córdoba para realizar una investigación conjunta del valor biológico y zootécnico del caballo de las Retuertas de Doñana, el Dr. Delgado, coordinador del mencionado grupo de inmediato propuso incorporar al estudio al mencionado Laboratorio de Genética Molecular de Cría Caballar. Esto además nos aseguraba un reconocimiento internacional de nuestros resultados.

Una vez planteada la iniciativa se decidió plantear el estudio en dos etapas. En primer lugar se realizaría un estudio rutinario con el panel de cinco polimorfismos bioquímicos disponibles en el laboratorio; y en segundo lugar se realizaría un estudio específico con un panel de 22 microsatélites recomendados por las instituciones internacionales.

Con los resultados obtenidos en el mencionado estudio se obtuvo en primer lugar la descripción del perfil genético de la raza y en segundo lugar su caracterización definitiva a tres niveles: En el contexto español, en el contexto mundial y en el contexto Iberoamericano.

Polimorfismos bioquímicos

Los distintos métodos electroforéticos permiten separar distintas formas moleculares que puedan tener una proteína presente en todos los individuos de una determinada población. La influencia del campo eléctrico sobre las proteínas disueltas en solución acuosa hace que sus distintas formas migren a velocidad distinta desde un polo a otro en función de su carga y masa, separándose de esta forma en fracciones sencillas.

En España hay una larga tradición de utilización de estas técnicas desde principios de los ochenta con un triple objetivo, por un lado el apoyo al control genealógico, en segundo lugar en la búsqueda de ligamiento genético con caracteres de interés económico y en tercer lugar para la caracterización genética de las poblaciones.

En la especie equina es el Laboratorio de Genética Molecular de Cría Caballar, conocido en los años ochenta como Laboratorio de Grupos Sanguíneos, el centro que destacaba a nivel nacional en la utilización de estas técnicas, manteniendo un gran reconocimiento internacional. Este laboratorio, por tanto, posee una extraordinaria experiencia, en el control genealógico equino basado en la información bioquímica e inmunogenética, pero también la utilización de los mismos en la caracterización racial, incluso de la raza más emblemática de nuestro país, el caballo Español (Rodríguez y cols. 1992)

El procedimiento de trabajo descrito también por nuestro equipo a nivel internacional (Delgado y cols. 2001) consiste de los siguientes pasos:

- Muestreo en la población a estudiar con un mínimo de 30-50 animales tomados al azar evitando en lo posible las relaciones familiares entre ellos. Utilización de muestras de sangre.
- Separación de la fracción celular del suero.
- Obtención de la solución acuosa tras su extracción de la muestra.
- Electroforesis en distintos substratos
- Tinción de los geles
- Identificación de alelos e interpretación de los resultados
- Calculo de frecuencias genotípicas y alélicas
- Establecimiento de distancias genéticas entre poblaciones
- Diseño de clusters con las relaciones filogenéticas establecidas con las distancias.

Como mencionamos anteriormente, a título de análisis preliminar, aplicamos sobre una muestra de 55 caballos de las Retuertas de Doñana las técnicas de análisis del polimorfismo de las proteínas del suero sanguíneo que se venían utilizando de manera rutinaria en el Laboratorio de Genética Molecular de Cría Caballar para todas las razas españolas y extranjeras presentes en España.

De esta forma se estudió la A1B-Glicoproteína, la Albúmina, la Carboxilesterasa, la proteína ligada a la Vitamina D y la Transferrina.

La mayor parte de los sistemas proteicos estudiados mostraron una distribución alélica común de sus variantes, de acuerdo con lo encontrado en el resto de razas estudiadas en nuestro laboratorio. Sin embargo, la carboxilesterasa mostró un comportamiento completamente anormal que nos llamó mucho la atención.

En primer lugar se observó que esta raza presentaba una cierta frecuencia del alelo “L”, el cual es muy raro en el Caballo Español y prácticamente no aparece en otras razas con excepción del caballo Berberisco (Ourag, 1994). Esto apunta una relación ancestral del caballo de las Retuertas de Doñana con esta raza norteafricana, al igual que se ha apuntado con el Caballo Marismeño con información del ADN mitocondrial. Este aspecto fue publicado por Vega-Plá y cols. (2005)

De todas formas este apunte no deja de ser más que anecdótico, ya que “un locus no hace un genoma” y la influencia histórica de líneas maternas de caballo berberisco en las poblaciones situadas próximamente al estrecho era algo fácil de esperar teniendo en cuenta nuestra historia.

Más importante, si duda fue nuestro segundo descubrimiento sobre el comportamiento de esta proteína en el caballo de las Retuertas de Doñana. Encontramos una nueva forma alélica de este marcador nunca descrita anteriormente. Este alelo lo llamamos provisionalmente alelo “K” y aparecía con una frecuencia de 0.16. En la figura 3 puede apreciarse su diferenciación electroforética. Esta información se incluyó en una amplia publicación de nuestro equipo en la que se abordaron también aspectos moleculares (Vega-Pla y cols. 2006), pero previamente utilizamos las relaciones internacionales del Laboratorio de Genética Molecular de Cría Caballar con los mejores laboratorios de Genética Equina del mundo para comprobar la inexistencia de referencias a este alelo a

nivel mundial, lo cual fue confirmado por laboratorios del calibre de LABOGENA en Francia y la Universidad de Davis (USA).

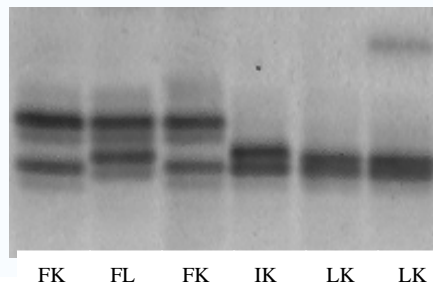


Figure 3.- Genotipos de la Carboxilesterasa correspondientes seis caballos de las Retuertas de Doñana siguiendo la nomenclatura de ISAG. El alelo K detectado aquí se sitúa por debajo del alelo L en el resultado de la electroforesis.

De cualquier forma, debemos decir también que la aparición de este nuevo alelo no deja de ser también anecdótica, ya que no indica nada más que en cualquier etapa de la historia de este caballo surgió una mutación de la Caboxilesterasa, que por cualquier razón incluida el azar, fue compatible con la adaptación de este animal a su ecosistemas.

Pero repetimos que “un locus no hace un genoma” y una población que sólo difiriera del resto de su especie en un solo alelo presente en un determinado locus, simplemente no diferiría.

Lo que si es cierto es que el comportamiento extraño de la Caboxilesterasa en esta raza nos hizo pensar en la posibilidad de que estuviéramos no sólo ante una raza diferenciada, sino que además esta raza pudiera tener dentro de la especie un significado especial nunca visto hasta el momento. Esto nos estimulo a seguir las pautas recomendadas internacionalmente por instituciones del prestigio de FAO e ISAG para completar la caracterización de estos animales utilizando marcadores moleculares y más concretamente microsátélites, como veremos más adelante.

A título de curiosidad estudiamos el comportamiento familiar de esta “nueva” caboxilesterasa, comprobando la existencia de una línea familiar bien demarcada, al menos en los animales que fueron estudiados. El pedegree correspondiente se muestra en la Figura 4.

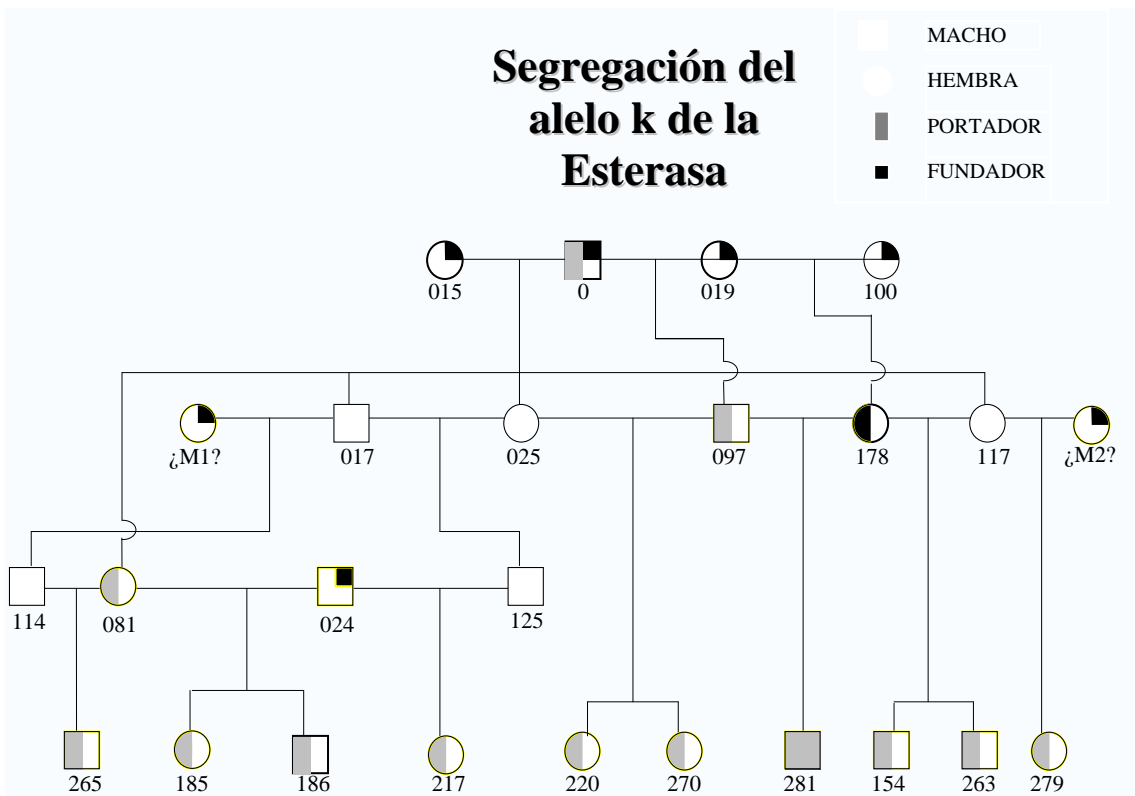


Figura 4: Pedegree mostrando el recorrido del alelo “K” de la Caboxilesterasa en una familia de la población estudiada del caballo de las Retuertas de Doñana.

De cualquier forma podemos decir que el caballo de las Retuertas de Doñana posee un alelo marcador en el locus de la Carboxilesterasa. Lo que quiere decir que con la información disponible en la actualidad, todo animal que presente este alelo pertenece a la raza, pero jamás podemos admitir que un animal que no lo posee no pertenezca. De cualquier forma la búsqueda de este alelo en las poblaciones criollas nos permitirá buscar argumentos para apoyar nuestra idea de que los atesores del actual caballo de las Retuertas de Doñana acompañaron a Cristóbal Colón en su primer viaje a las Américas.

Marcadores microsatélites

Con el advenimiento de la tecnología del ADN recombinante en los años setenta se consiguió una nueva oportunidad para la identificación de marcadores genéticos, esta vez el polimorfismo se detectaba directamente sobre las propias moléculas de ADN.

De todos los marcadores moleculares existentes hoy e día, han sido los microsatélites los que han demostrado una mayor eficacia en los usos zootécnicos que tradicionalmente se les daba a los polimorfismos bioquímicos, y marcadores

inmunogenéticos. Es decir, para el control genealógico, la identificación animal, y sobre todo para la caracterización de poblaciones (entre ellas las razas domésticas).

Organizaciones internacionales en las que participa España como son la FAO, la ISAG la FEZ, el ICAR, destacan a los microsatélites como las herramientas de elección para los objetivos mencionados. Tanto es así, que algunas de ellas como FAO e ISAG han creado un consenso internacional recomendando paneles de aplicación y estimulando la realización de test de intercomparación entre laboratorios para poder hacer a los resultados obtenidos utilizables por cualquiera que esté homologado.

Este es el caso del laboratorio encargado de realizar la caracterización genética del caballo de las Retuertas de Doñana. El Laboratorio de Genética Moléculas de Cría Caballar es uno de los pocos laboratorios españoles que se encuentra homologado a nivel internacional par realizar este tipo de estudios, ya que participa siempre en los test de intercomparación realizados por la ISAG. Esto hace que sus resultados automáticamente sean asumidos por todos los laboratorios de élite del mundo especializados en genética equina.

Las razones de lección de los microsatélites son variadas, pero podemos destacar su bajo coste, su repetibilidad entre laboratorios, su gran polimorfismo, su herencia codominante que nos permite detectar la expresión de todos los alelos, la posibilidad de extrapolación de herramientas estadísticas preexistentes, entre otras.

- Proceso laboratorial
 1. Muestreo aleatorio y simple de la población a caracterizar, estratificando por sexos, ganaderías, localización, variedades, etc.
 2. Toma de muestras de material biológico (generalmente sangre o pelo con bulbo).
 3. Extracción del ADN de la muestra.
 4. Cuantificación del ADN extraído utilizando generalmente la espectrofotometría.
 5. Amplificación de fragmentos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)
 6. Separación del producto amplificado mediante electroforesis.
 7. Identificación de los alelos (tipificación)
- Proceso estadístico

1. Cálculo de frecuencias alélicas y genotípicas
2. Cálculo de parámetros genéticos por población, y por marcador (Índices de Fijación, Número de alelos, Estadísticos F, Test de heterocigosidad, Test de equilibrio, etc)
3. Cálculo de distancias genéticas
4. Diseño de árboles de relación y clusters filogenéticos utilizando la información de las distancias.

En el presente estudio, el cual fue publicado en extenso en la revista *Animal Genetics* (Vega-Plá y cols, 2006), se ha utilizado una batería de 22 microsatélites formada por los siguientes marcadores: AHT 4 y 5 (Binns y cols. 1995), ASB 2 y 17 (Breen y cols. 1997) ASB 23 (Lear y cols. 1999), HMS 3, 6 y 7 (Guerín y cols. 1994), HTG 4 (Ellegren y cols. 1992), HTG 10 (Marklund y cols. 1994), LEX 33 (Shiue y cols. 1999), TKY 279, 287, 294, 297, 301, 312, 321, 325, 333, 337 y 341 (Tozaky y cols. 2001). Todos ellos homologados a nivel internacional.

El material animal empleado fue de 449 individuos tomados al azar de las muestras disponibles en el laboratorio de once razas que a tenor de la información histórica disponible, podrían considerarse en el contexto de la población a caracterizar. Estas fueron las siguientes: Andaluz o Pura Raza Español (SPB, 60), Pura Sangre Inglés (THO, 46), Árabe (ARB, 48), Losino (LOS, 58), Asturcón (AST, 39), Mallorquín (MAL, 30), Menorquín (MEN, 69), Pottoka (POT, 27), Trotador Español (TRO, 46) y por supuesto, Marismeño (MAR, 26). También se utilizaron muestras de asnos como grupos testigo para dimensionar las distancias obtenidas.

En la Tabla 2 se muestra para cada raza el tamaño de la muestra, el número de alelos detectados para cada población, las heterocigosidades observada y esperada, así como el valor de Fis. El tamaño de la muestra en todos los casos estuvo en los niveles recomendados por FAO e ISAG, y los animales fueron tomados al azar en todas las razas implicadas, llegando en el caso del Retuertas de Doñana a superar la mitad de la población total muestreada.

El recuento del número de alelos es un indicador preliminar de los niveles de diversidad genética existente en la población estudiada, en nuestro caso el Caballo de las Retuertas, muestra claros indicios de aislamiento genético al mantener los niveles más bajos de

todas las razas estudiadas. La comparación entre las heterocigosidades observada y esperada nos permite detectar efectos genéticos actuales sobre la población que alteran el equilibrio de Hardy-Weimberg, bien sea por exceso de heterocigotos, o bien por defecto. En el caso del Caballo de las Retuertas se apreció un ligero exceso de heterocigotos, lo que se explica por la segmentación en tropas de la población con la consecuente formación natural de subpoblaciones aisladas reproductivamente y por el reciente cuello de botella que ha sufrido la población desde que permanece aislada en la Reserva Biológica de Doñana. El F_{IS} es un indicador de la consanguinidad de la población y en nuestro estudio se puede apreciar que a pesar del pequeño tamaño real y efectivo de la población del Caballo de las Retuertas la situación anteriormente descrita, donde remarcábamos la existencia de subgrupos, hace que la población tenga unos niveles de endogamia inferiores a lo que cabría esperar según su tamaño real y efectivo de la población. De cualquier modo, la situación de la raza, por su pequeño censo, por la concentración de todo él en un área muy restringida y por su actual no reconocimiento oficial, la sitúa en un extremo peligro de extinción, sobre todo si tenemos en cuenta en adición la restricción al crecimiento de la población debido a las limitaciones de censos en el seno del Parque Nacional.

Tabla 4.- Tamaño de la muestra, Número de Alelos, diversidad genética y desviación estándar entre paréntesis, heterocigosidad observada y desviación estándar, y finalmente coeficiente de consanguinidad F_{IS} (*Valores significativos por exceso o por defecto $P < 0.05$). (RET. Retuertas; ARA. Árabe, AST. Asturcón, SPB. Español, ING. Inglés, LOS. Losino, MAL. Mallorquín, MAR. Marismeño, MEN. Menorquín. POT. Pottoka, TRO Trotador Español)

Población	N	Nº Alelos (SD)	H _z Insegada(SD)	Obs H _z	F_{IS}
RET	55	5.91 (1.06)	0.6857 (0.0194)	0.7255 (0.0129)	-0.0587*
ARA	48	6.05 (1.50)	0.6725 (0.0245)	0.6353 (0.0148)	0.0559*
AST	39	7.18 (1.74)	0.7361 (0.0195)	0.7584 (0.0146)	-0.0307
SPB	60	7.77 (1.34)	0.7522 (0.0171)	0.7477 (0.0120)	0.0060
ING	46	5.73 (1.08)	0.7350 (0.0128)	0.7418 (0.0138)	-0.0093
LOS	59	8.27 (1.52)	0.7444	0.7522	-0.0105

Árabe	0.159	0											
Asturcón	0.124	0.212	0										
Español	0.098	0.185	0.171	0									
Inglés	0.177	0.226	0.270	0.204	0								
Losino	0.115	0.219	0.140	0.148	0.268	0							
Mallorquín	0.131	0.267	0.218	0.188	0.263	0.222	0						
Marismeño	0.077	0.170	0.161	0.063	0.181	0.139	0.170	0					
Menorquín	0.127	0.239	0.207	0.164	0.270	0.156	0.176	0.162	0				
Pottoka	0.128	0.224	0.158	0.146	0.248	0.110	0.199	0.144	0.168	0			
Trotón	0.273	0.200	0.203	0.141	0.162	0.180	0.180	0.134	0.164	0.149	0		
Asno	0.423	0.470	0.396	0.374	0.409	0.380	0.427	0.368	0.394	0.392	0.393	0	0

Atendiendo a nuestros resultados con los índices de fijación (Tabla 5) por pares de razas, podemos ver que bajo los modelos de infinitos alelos y de Slatkin los resultados obtenidos con las distancias genéticas se ven corroborados. Es decir se confirma aun con mayor profundidad que el caballo de las Retuertas mantiene una posición muy bien definida dentro del contexto racial de la especie equina.

Tabla 6. índices de Fijación por pares de poblaciones par alas poblaciones estudiadas incluida los asnos. Por encima de la diagonal se presentan los resultados según el modelo de infinitos alelos y debajo con el estimador insesgado de Slatkin Rst.

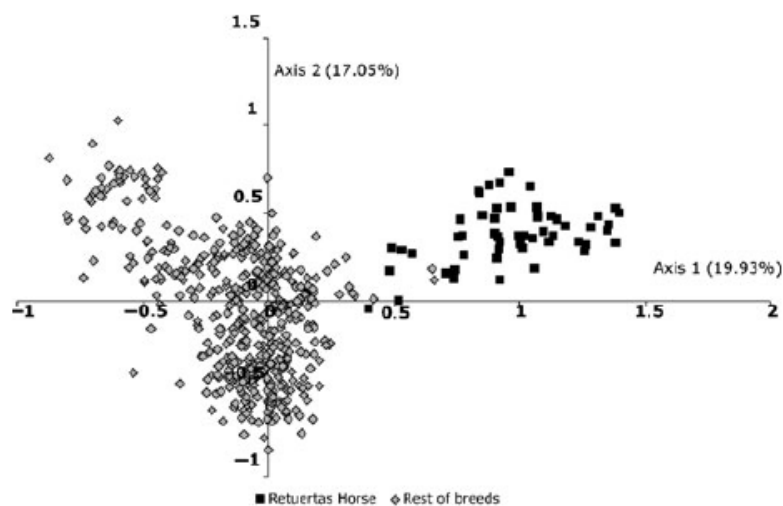
	RET	ARA	AST	SPB	THO	LOS	MAL	MAR	MEN	POT	TRO	DON
Retuertas	0	0.15	0.11	0.09	0.16	0.11	0.12	0.07	0.12	0.11	0.19	0.36
Arabian	0.16	0	0.08	0.10	0.12	0.09	0.10	0.07	0.05	0.06	0.09	0.38
Asturcon	0.17	0.11	0	0.11	0.19	0.04	0.10	0.08	0.04	0.05	0.12	0.33
Spanish Pure Breed	0.11	0.11	0.08	0	0.10	0.07	0.08	0.02	0.03	0.09	0.13	0.31
Thoroughbred	0.18	0.12	0.12	0.10	0	0.14	0.12	0.08	0.13	0.13	0.07	0.34
Losino	0.16	0.06	0.06	0.07	0.12	0	0.07	0.08	0.00	0.05	0.08	0.32
Mallorquin	0.16	0.13	0.09	0.08	0.12	0.09	0	0.06	0.07	0.09	0.11	0.35
Marismeño	0.07	0.08	0.05	0.02	0.07	0.04	0.06	0	0.06	0.05	0.10	0.31
Menorquin	0.15	0.12	0.08	0.06	0.12	0.07	0.07	0.05	0	0.06	0.08	0.32
Pottok	0.16	0.12	0.06	0.06	0.09	0.04	0.07	0.04	0.04	0	0.07	0.33
Spanish Trotter	0.13	0.11	0.09	0.07	0.07	0.08	0.08	0.05	0.05	0.06	0	0.33
Donkey	0.79	0.79	0.77	0.78	0.78	0.78	0.79	0.74	0.74	0.74	0.76	0

En la Figura 5 podemos ver la excelente definición de los caballos de las Retuertas de Doñana con respecto al resto de las razas estudiadas en los resultados de un análisis multivariante Factorial de Correspondencia, teniendo en cuenta la información molecular de los marcadores estudiados. La representación gráfica se realiza teniendo en cuenta las dos primeras variables canónicas, y en ella puede observarse como el caballo de las Retuertas de Doñana forma un agrupamiento completamente independiente del resto de la especie. Debemos puntualizar que en este análisis se eliminó a los asnos ya que su introducción reduciría la distribución espacial de los resultados.

Esto nos hace presumir una posición filogenética muy ancestral, la mayor de las actuales razas españolas de caballos, y resalta el interés biológico del caballo de las Retuertas de Doñana.

En la imagen resulta sorprendente la nítida separación de la práctica totalidad de los Caballos de las Retuertas respecto de los del resto de las razas estudiadas, que aparecen agrupados al margen de una forma muy bien definida.

Figura 5.- Proyección sobre los dos ejes que absorben la máxima variabilidad, en un análisis multifactorial, de los ejemplares de las once razas de caballos consideradas (Vega-Pla y cols. 2006).



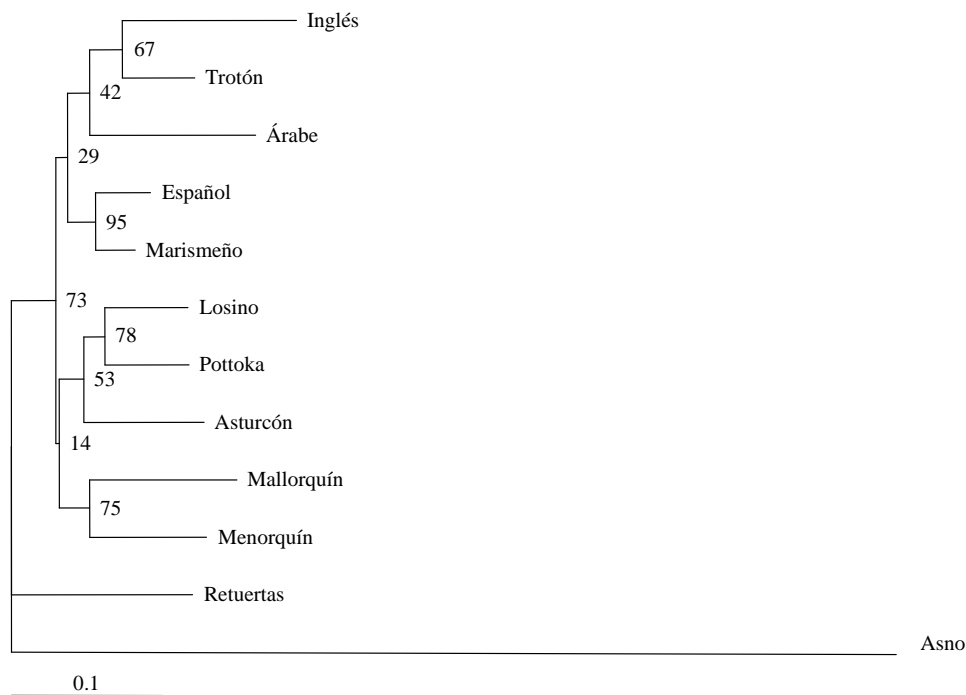
En la figura 6 presentamos un árbol filogenético de relación (Neighbour Joining Tree) construido con las distancias genéticas D_a de Nei. Esta vez si mantenemos a los asnos ya que este método nos permite fijar la raíz filogenética del árbol construido. También destacamos aquí la alta precisión de los resultados demostrada con los valores de bootstraps, en todos los casos muy alto, con la excepción de la diferenciación de los clusters formados por los caballos Celtas y los Baleares.

Los resultados apoyan lo visto en el análisis factorial de correspondencia, ya que el caballo de las Retuertas de Doñana se muestra también aquí como una raza perfectamente diferenciada, en un análisis que se muestra concordante con el conocimiento histórico y evolutivo de las razas implicadas. Destacamos en este sentido, la relación conocida entre los trotones y el Pura Sangre Inglés; el agrupamiento de las

tres razas de origen Celta; del mismo modo que ambas razas Baleares. Destaca aquí la altísima proximidad entre el Marismeño y el Pura Raza Española que apunta influencias recientes entre ambas más allá de un origen común.

En todo caso el Retuertas de Doñana no sólo se muestra en nuestros estudios como una raza diferenciada, sino que podríamos llegar a decir que su aislamiento y asilvestramiento nos ha podido traer hasta la actualidad una raza ancestral escasamente evolucionada bajo criterios artificiales que guardaría una relación directa con los ancestros de los caballos Ibéricos que tan altamente fueron reconocidos por civilizaciones como la Romana y la Árabe.

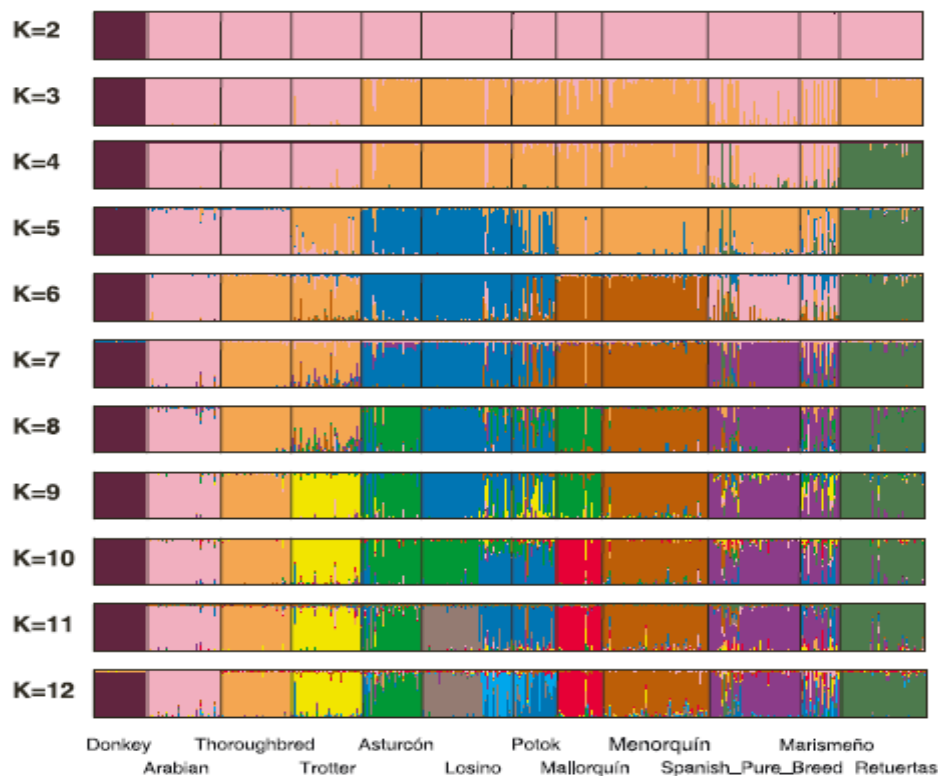
Figura 6.- Árbol de relación (Neighbour-joining tree) construido con las distancias D_a para las once poblaciones en estudio, incluyendo los asnos. El número en los entronques de las razas representan el porcentaje sobre 1000 iteraciones entre loci.



Para concluir el análisis estadístico de los resultados moleculares, se realizó uno de las pruebas más modernas y avanzadas para el análisis de las estructuras poblacionales de los animales incluidos en un determinado estudio. El programa STRUCTURE de Pritchard y cols. (2000) realiza agrupamientos paso a paso de los individuos estudiados, emitiendo en primer lugar la hipótesis de existencia de dos poblaciones,

incrementando seguidamente el número de poblaciones hipotéticas hasta alcanzar el máximo de las preestablecidas, en nuestro caso 12.

Figura 7 .- Sucesivos agrupamientos realizados por el programa “Structure” de las once razas de caballos analizadas, y el asno, atendiendo a sus características genéticas (Vega-Pla y cols. 2006).



En la figura 7 se muestran los sucesivos agrupamientos que realiza el programa informático “Structure” (Pritchard y cols, 2000) utilizando los datos genéticos de cada uno de los individuos de las doce poblaciones analizadas, incluyendo el asno. Los cálculos se realizan aplicando un enfoque bayesiano y utilizando técnicas MCMC (Monte Carlo Markow Chain). Este programa agrupa a los animales que tienen más probabilidad de pertenecer a una misma población ancestral. Cuando se consideran dos poblaciones ancestrales ($K=2$), se separa el asno de todos los caballos. Al realizar tres grupos ($K=3$), se separan por un lado los individuos de las razas Árabe, Inglés, Trotador Español, Pura Raza Española y Marismeño, y por otro los de las razas de origen centroeuropeo (Asturcón, Losino y Potoca), incluyéndose entre estos últimos los Mallorquines, Menorquines y los Caballos de las Retuertas.

El siguiente paso (4 poblaciones ancestrales: $K=4$) deja ya a todos los ejemplares de Caballo de las Retuertas juntos, con una entidad propia, siendo pues los primeros que se

individualizan como población ancestral. Las demás razas de caballos siguen formando dos grupos, que se van separando progresivamente de la manera esperada, según se le va pidiendo al programa que vaya haciendo más grupos (entre $K=5$ y $K=12$).

Por otra parte, y a pesar que los marcadores moleculares descritos hasta la actualidad del cromosoma Y, y del ADN mitocondrial no son eficaces para el estudio de periodos cortos de evolución como puedan ser la formación de razas modernas, debemos comentar aquí algunos puntos sobre la información existente de este tipo de marcadores para las razas españolas.

El ADN mitocondrial parece revelar múltiples eventos de domesticación en el viejo mundo en distintas áreas geográficas, los cuales fueron seguidas por un intenso flujo de genes probablemente debido a los movimientos de las civilizaciones humanas usando al caballo como animal de guerra, hasta formar en la actualidad linajes in completos y una mezcla de haplotipos entre razas (Vilá y cols. 2001, Hill y cols. 2002, Jansen y cols. 2002 y Bruford y cols. 2003). De todas formas no está clara la información que aporta esta tipo de análisis en caballos por la aparición de haplotipos de comunes a muy diferentes poblaciones dentro de una misma raza (Mirol, 2002)

Por tanto el análisis de este tipo de marcadores en el caballo de las Retuertas de Doñana, no nos iba a aclarar nada. Tengamos en cuenta que la aparición de haplotipos de caballos Berberiscos en el caballo Marismeño, que también podrían aparecer en el Retuertas, en el Pura Raza Española o cualquier otra raza del mundo, esto no explicaría la influencia en el pasado de animales procedentes del norte de África sobre las razas de estos animales localizados en el suroeste peninsular, algo que sin duda podría ser considerado como una obviedad.

Pensemos también que si una raza tuviera un haplotipo propio de ADN mitocondrial y cruzáramos sus hembras con un macho exótico, todos sus descendientes se comportarían como animales originales, mientras que se trata de cruzados al 50%.

También nos gustaría apuntar aquí nuestra intención de estudiar el papel preponderante de los antecesores del caballo de las Retuertas de Doñana en la formación de las razas criollas Iberoamericanas. En tal sentido ya hemos realizado un estudio preliminar, incluyendo algunas razas americanas de origen ibérico en un estudio reciente (Vega-Plá y cols. 2005) como fueron el caballo Criollo Cubano y las razas brasileñas Mangalarga, Pantaneiro y Marajoara.

Los resultados obtenidos aun no han apuntado resultados concluyentes, pero no se percibe una clara relación con el Caballo de las Retuertas por el momento.

En la actualidad nuestras investigaciones se dirigen a otros grupos raciales los cuales ya han sido muestreados en el seno de la Red CYTED XII-H, en los que comprobaremos la posible relación mediante marcadores microsatélites y sobre la que rastreamos la presencia del alelo marcador de la Carboxilesterasa descrito anteriormente.

Confiamos poder aportar en breve una información más clara sobre la influencia en América del Caballo de las Retuertas de Doñana.

CONCLUSIONES

- Desde el punto de vista histórico, sociocultural y ecológico existen evidencias de mostradas de la presencia del caballo de las Retuertas de Doñana en el área demarcada por el actual Parque Nacional de Doñana desde tiempos remotos. Se apuntan referencias a animales asilvestrados en la zona desde los primeros años del siglo XX, que probablemente pudieran remontarse mucho más tras.
- El caballo de las Retuertas de Doñana desde el punto de vista morfológico presenta una gran uniformidad, al contrario que ocurre en el caballo Marismeño. Casi todos los animales son Castaños, eumétricos, mediolíneos y Subconvexos, mostrando una estructura física acorde con su carácter asilvestrado. Esta estructura lo hace un animal poco bello para los criterios estereotipados de los criadores equinos, pero le ofrece una gran adaptación al medio.
- Se aprecia un dimorfismo sexual evidente no apuntado en el Marismeño, motivado por su rusticidad y una gran peculiaridad en su morfología que lo hace muy interesante desde el punto de vista morfológico.
- No es evidente ninguna influencia reciente de razas modernas nacionales o extranjeras. Pero si se aprecia su pertenencia a un tronco racial Ibérico junto a Español y Marismeño, pero en una posición muy poco evolucionada.

- Desde el punto de vista funcional, el caballo de las Retuertas de Doñana presenta una gran armonía gracilidad de movimientos que lo integra de una manera característica en el ambiente de la Reserva Biológica como una parte más del equilibrio del ecosistema. En el pasado se habla de él como un animal excelente para el trabajo en las áreas encharcadas, para lo que muestra docilidad, resistencia y capacidad de aprendizaje. En las circunstancias de asilvestramiento se comporta como un animal excitable y agresivo que responde al ser humano como si se tratara de un predador.
- La utilidad potencial de este caballo se reduce a su utilización como animal de trabajo integrado en la Reserva y el Parque, o para incluirlos como un aliciente más par los paseos ecoturísticos en estas áreas protegidas.
- El descubrimiento de un alelo desconocido del enzima Carboxilesterasa muestra al caballo de las Retuertas de Doñana como una población única y aislada desde el punto de vista genético. Este alelo podría ser consecuencia de un polimorfismo ancestral extraño que debido a larga reproducción en aislamiento, sólo está presente en esta raza. Aunque también podría ser resultado de una nueva mutación en una reducida población, si bien esta última posibilidad es extraña debido a la bajísima probabilidad de mutación esperada para este locus.
- Además si tenemos en cuenta la anormal alta frecuencia de otro de los alelos de esta serie, no podemos dejar de pensar que la Carboxilesterasa pueda tener un significado evolutivo especial para animales criados de manera asilvestrada en regiones de Marisma y pastos salinos. Pero esta especulación deberá ser demostrada en el futuro.
- Los niveles de diferenciación encontrados en nuestros estudios son bajos con respecto los apuntados para otras especies, pero se encuentran en la norma o ligeramente por encima de los resultados obtenidos en otros estudios realizados en équidos.
- Otra cuestión sorprendente en el caballo de las Retuertas de Doñana fueron los resultados del análisis de relación. El agrupamiento entre las razas Español, Marismeño y Retuertas era lo esperado debido a razones históricas, evolutivas y geográficas. Sin embargo el Caballo de las Retuertas no quedó incluido en esta relación. Buscando explicación a esto, la encontramos en varios puntos:

- a) El caballo de las Retuertas de Doñana no ha sido influido por otras razas en los últimos 30 años, ya que esto ha sido contratado por los gestores de la Reserva y ha sido comprobado con análisis genealógico con marcadores de ADN.
- b) El Marismeño, probablemente la raza más próxima filogenética y geográficamente, en el momento de su reconocimiento en el año 2004 sólo poseía dos sementales activos, mientras que el Retuertas poseía por encima de 20. Por tanto la influencia accidental podría haber acontecido desde el Caballo de las Retuertas de Doñana sobre el Marismeño, y no al contrario. En el análisis de adscripción individual encontramos como algunos animales Marismeños muestran similitudes con el perfil del caballo de las Retuertas de Doñana, lo que podría querer decir que:
- La base del Marismeño era el Caballo de las Retuertas y se modificó en el tiempo mediante selección artificial y cruzamientos con otras razas hasta formar el actual caballo Marismeño.
 - Algunas yeguas Marismeñas han podido ser fertilizadas por machos de las Retuertas, que hayan pasado de una a otra finca por los “portillos” que ha sido habitual se produzcan en las vallas, y hayan constituido allí una tropa.
- c) El caballo de las Retuertas de Doñana se comporta como un équido salvaje, es decir forma tropas con un semental líder que no permite la actuación de otros sementales, esto sin duda lo ha protegido de cualquier influencia externa, probablemente en los últimos siglos.
- d) La gestión genética del Caballo de las Retuertas es diferente a cualquier otra raza, ya que mientras las razas domésticas se rigen por las leyes de la selección artificial, la raza asilvestrada se rige por la selección natural.



Figura 8. Análisis comparativo en imágenes de la raza Marismeña y del Caballo de las Retuertadas de Doñana, para ilustrar su evidente diferenciación. Las dos fotos de la izquierda muestran la “saca de las yeguas” donde están implicados los caballos Marismeños con una clara heterogeneidad. Las dos fotos de la derecha muestran imágenes de una de las tropas de los Retuertados de Doñana en los que se puede apreciar su uniformidad y su aspecto rústico y ambiental

Conclusión final

Por todo lo descrito en el presente informe consideramos que existen evidencias históricas, socio-culturales y ecológicas de la existencia secular del caballo de las Retuertadas de Doñana. Además se muestra desde el punto de vista morfológico y funcional como una población uniforme y muy bien definida, completamente diferente de cualquier otra raza descrita hasta el momento.

Desde el Punto de vista genético se muestra como una raza ancestral que posee unas características únicas tanto a nivel español como internacional. La existencia de un alelo propio en el locus del a Carboxilesterasa y el perfil genético obtenido mediante la utilización de marcadores microsatélites, de acuerdo a las directrices internacionales de FAO e ISAG, dejan a estos animales perfectamente caracterizados como una raza diferenciada y además le confiere una excepcional importancia biológica dentro del patrimonio genético español, lo que recomienda no sólo su reconocimiento inmediato

como raza por parte de los organismos competentes, sino la implantación de medidas excepcionales para su conservación, algunas de ellas ya en marcha, como es el desarrollo de un banco de germoplasma específico.

Finalmente nos gustaría apuntar que este informe ha sido elaborado por un equipo multidisciplinar (Genétistas, Zootecnistas, Ecólogos, Etólogos, Evolucionistas, etc) y multi-institucional (Universidad de Córdoba, CSIC, IFAPA, Diputaciones de Córdoba y de Huelva, entre otras) y con el apoyo de la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Marismeño. Además está avalado por publicaciones científicas difundidas en las mejores revistas del área de la Producción Animal y la Genética Equina. En especial los estudios genéticos, por haberse realizado en un laboratorio homologado a nivel internacional para el estudio de marcadores genéticos equinos y haberse realizado en el cumplimiento estricto de las convenciones internacionales, son admitidos y reconocidos a nivel mundial.

Por todo lo expuesto solicitamos y recomendamos su reconocimiento oficial como una raza autóctona de protección especial, así como su inclusión inmediata en el Catalogo Oficial de Razas de Ganado de España.

REFERENCIAS

[<http://www.imh.org/imh/kyhpl1b.html#xtocid2243616> "A Chronological History of Humans and Their Relationship With the Horse" from *International Museum of the Horse*, web site, accessed February 8, 2007

Binns, M.M., N.G. Colmes, A. Holliman y A.M. Scout. 1995. The identification of polymorphic microsatellite loci in the horse and their use in Thoroughbred parentage testing. *British Veterinary Journal*. 151:9-15.

Breen, M., G. Lindgren, M.M. Venís, J. Norma, Z. Irvin, K. Bell, K. Sandberg, y H. Ellegren. 1997. Genetical and physical assignment of equine microsatellites-first integration of anchored markers in horse genome mapping. *Mammalian genome*. 8:267-273.

Bruford, M.W., D.G. Bradley y G. Luikart. 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nature Reviews Genetics*. 4:900-910.

Calderón J. 2006. Comunicación personal.

Delgado, J.V., C. Baraba, M.E. Camacho, F.T.P.S. Sereno, A. Martínez y J.L. Vega-Plá. 2001. Caracterización de los animales domésticos en España. *AGRI-FAO* 29:7-18.

FAO. 1998a. Primer documento de líneas directrices para la elaboración de planes nacionales de gestión de los recursos genéticos de los animales de granja. FAO ed. Roma. 146 pp

FAO. 1998b. Segundo documento de líneas directrices para la elaboración de planes nacionales de gestión de los recursos genéticos de los animales de granja. Gestión de pequeñas poblaciones en peligro. FAO ed. Roma. 237 pp

FAO. 1998c. Primer documento de líneas directrices para la elaboración de planes nacionales de gestión de los recursos genéticos de los animales de granja. Control de rendimientos animales para ambientes de producción de medianos ingresos. FAO ed. Roma. 112 pp.

Ellegren H., M. Johansson, K. Sandberg, y L. Andersson. 1992. Cloning of highly polymorphic microsatellites in horse. *Animal Genetics* 23:133-142

Guerin, G., M. Bertand, y Y Amigues. 1994. Characterization of seven new horse microsatellites: HMS1, HMS2, HMS3, HMS5, HMS6, HMS7, HMS8. *Animal Genetics* 25:62.

Hill, E.W. D.G. Bradley, M. Al-Barody, O. Ertugrul, R.K. Splan I. Zakharov y E.P. Cunningham. 2002. History and integrity of thoroughbred dam lines revealed in equine mtDNA variation. *Animal Genetics* 33:287-294.

ICAR. 2007. *Internacional Agreements of Recording Practices*. ICAR Recording Guidelines. ICAR Ed. Roma. Pp: 514.

Jansen, T., P. Foster, M.A. Levine, H. Oelke, M. Hurles, C. Renfrew, J. Weber y K. Olek. 2002. Mitochondrial DNA and the origin of domestic horse. *Proc. of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 99:10905-10910.

Lear, T.L., R. Brandon y K. Bell. 1999. Physical mapping of ten equine dinucleotide repeat microsatellites. *Animal Genetics*. 30:235.

Lindgren, G., Backström, N., Swinburne, J., Hellborg, L., Einarsson, A., Sandberg, K., Vilà, C., Binns, M. & Ellegren, H. (2004) Limited number of patrilineages in horse domestication. *Nature Genetics* 36: 335-336.

Marklund, S., H. Ellegren, S. Eriksson, K. Sandberg, y L. Andersson. 1994. Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic microsatellites. *Animal Genetics* 25:19-23.

Mirol P.M., Peral García P., Vega-Pla J.L. Dulot F.N. 2002 Phylogenetic relationships of Argentinean Creole horses and other South American and Spanish breeds inferred from mitochondrial DNA sequences. *Animal Genetics* 33: 356-363.

Muñoz Bort, D. 2004. *La ganadería caballar en la Villa de Almonte*. Introducción histórica. Ed. Ayuntamiento de Almonte. Almonte. 150 pp.

Peinado, B.; Vega-Pla, J.L.; Martínez, M.A.; Galián, M.; Barba, C.; Delgado, J.V.; Poto, A. 2006. Chato Murciano pig breed: genetic and ethnozoological characterization. *Animal Genetic Resources Information*. 38:77-86.

Rodero, A., Delgado, J.V. and Rodero, E. 1992. Primitive Andalusian livestock and their implications in the Discovery of America. *Arch. Zoot.* 41(154 Ex):64-73.

Signe, Y.L., L.A. Bickel, y A.R. Caetano. 1999. A synteny map of the horse genome comprised of 240 microsatellite and RAPD markers. *Animal Genetics* 139:457-462.

Spoonenberg, P. 2006. Comunicación Personal. Universidad de Virginia (USA).

Tozaki, T., H. Kakof, S. Máxima, K. Hirota, T. Hasgawa, N. Ishida, N. Miura, N. Choi-Miura y M. Tomita. 2001. Population study and validation of paternity testing for thoroughbred horses by 15 microsatellites loci. *Journal of Veterinary Medical Science*. 63:1191-1197.

Vega-Pla, J.L., J. Calderón, P.P. Rodríguez-Gallardo, B. Alcalde, F.T.P.S. Sereno, M.R. Costa, E.Pérez-Pineda, J.V. Delgado y C. Rico. 2005. The Retuertas horse: the “missing link” in the Iberoamerican horse breed origin?. En: *Conservation Genetic of endangered horse breeds*. Ed.I.Bodo, L. Alderson y B. Langlois. Wageningen Pers. pp 167-176.

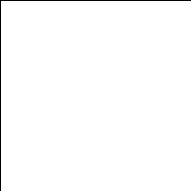
Vega-Pla, J.L., J. Calderón, P.P. Rodríguez-Gallardo, A.Martínez y C. Rico. 2006. Saving feral horses: Does it really matter? A case study of wild horses from Doñana Nacional Park in southern Spain. *Animal Genetics* 37:571-578.

Vila, C, Leonard, JA, Gotherstrom, A, Marklund, S, Sandberg, K, Liden, K, Wayne, RK, and Ellegren, H. (2001). Widespread origins of domestic horse lineages. *Science* 291: 474-477.

AGRADECIMIENTOS

Como ya hemos hecho mencon este trabajo es el fruto de una intensa investigación multidisciplinar y multi-institucional que nación de la inquietud de un grupo de científicos por saber. Este trabajo se realizó con el esfuerzo personal de esos investigadores sin que mediara ningún interés económico, ni político.

Todo empezó con la intención de conocer el valor de una población equina que se desenvolvía libremente en las áreas del Parque Nacional de Doñana pertenecientes al Consejo Superior de Investigaciones Científicas, pero tras los primeros resultados obtenidos, nos dimos cuenta de que se trataba de algo muy especial, de mucho valor zootécnico y científico en general. Vimos que podíamos estar ante una de las poblaciones equinas más antiguas de Europa y esto nos apasionó hasta dedicar buena parte de nuestro tiempo a demostrarlo.



En este documento incluimos las pruebas obtenidas, las cuales no han sido distribuidas al gran público hasta que no conseguimos su refrendo internacional a través de una publicación en la revista científica más prestigiosa del área de Producción Animal (Animal Genetics). Por todo ello debemos felicitarnos como científicos.

De cualquier manera, nada hubiéramos podido hacer sin la implicación de algunas instituciones no científicas que nos ofrecieron su apoyo incondicional, involucrándose por completo en el reconocimiento y la conservación del Caballo de las Retuertas. En este sentido debemos apuntar a todas las Oficinas Comarcales Agrarias del Área de Doñana y muy especialmente a la de Almonte. Sus técnicos siempre estuvieron al servicio de la causa.

No podemos olvidar aquí a la Dirección General de la Producción Agraria, la cual dio el apoyo administrativo necesario para solicitar el reconocimiento oficial de esta raza dentro del patrimonio Español.

Queremos hacer una mención especial a la Asociación de Criadores de Ganado Marismeño, que supieron comprender que el Caballo de las Retuertas debe estar unido y protegido por el sector, ya que de lo contrario nunca dejaría de ser una especie de rareza científica al margen de la realidad agro-ganadera. Con su implicación y apoyo estamos seguros que el Caballo de las Retuertas tendrá un futuro mejor.

Las fotografías aquí incluidas fueron aportadas por Juan Calderón, José Luis Vega Héctor Garrido (Chiqui). Muchas gracias por ilustrar este trabajo con tan buenas imágenes.

Finalmente queremos agradecer a todos los ciudadanos que se han interesado por el Caballo de las Retuertas desde siempre, o desde que irrumpió en los medios de comunicación, su papel ha sido esencial para convertir a esta raza en un nuevo emblema del Parque Nacional de Doñana.