

# Coeficientes de endogamia y diferenciación poblacional en cuatro variedades de gallina Penedesenca después de 25 años de reproducción en población cerrada

A. FRANCESCH\* y M. CARTAÑÀ

IRTA, Centre Mas de Bover, Ctra. Reus-El Morell Km 3,8, 43120 Constantí, España

\*Autor para la correspondencia: amadeu.francesch@irta.cat

En el año 1986 se había terminado un trabajo de recuperación de razas de gallinas autóctonas catalanas: Penedesenca, Empordanesa y Prat. Este trabajo finalizaba con la formación de unas subpoblaciones uniformes en color a partir de cada una de las poblaciones base recuperadas, que no eran uniformes en este sentido. Desde aquel momento estas subpoblaciones han permanecido en un programa de conservación del IRTA y se han mantenido cerradas. Han seguido en una actividad en la que se han controlado las genealogías, se han impedido los apareamientos altamente consanguíneos y se ha realizado cierta selección cara a mantener mínimamente los parámetros productivos, así como la morfología. Trascurridos 25 años, se estimó cómo se mantenía su variabilidad genética y cómo se han diferenciado. Aquí presentamos los resultados obtenidos en la raza Penedesenca.

Las subpoblaciones separadas de la población base de raza Penedesenca son las que conocemos como variedades negra, aperdizada, trigueña y barrada. Se obtuvieron 41 muestras de sangre de la variedad negra, 33 de la aperdizada, 27 de la trigueña y 35 de la barrada. El ADN obtenido de cada muestra fue analizado en base a un conjunto de 29 marcadores microsatélite, 28 de los cuales son los recomendados por la FAO, y los utilizados en el proyecto AVIANDIV (<http://w3.tzv.fal.de/aviandiv>).

Los coeficientes de endogamia (Fis) obtenidos en cada variedad fueron bajos, de 0,12 en la variedad negra, 0,07 en la aperdizada, 0,08 en la trigueña y 0,06 en la barrada. Todos, excepto el de la barrada, fueron significativamente distintos de 0.

Se estudió si las cuatro variedades o subpoblaciones constituían poblaciones distintas. Para ello se utilizó el programa *Structure*. Después de haber considerado las posibilidades hasta  $K=5$  (5 poblaciones), en el test de máxima verosimilitud se obtuvo que el valor máximo de  $\ln Pr(X/K)$  como promedio de 20 repeticiones dentro de cada  $K$  correspondió a  $K=4$ , lo que estaba de acuerdo en que las cuatro variedades surgidas de la población base habían derivado en poblaciones diferenciadas en base a los marcadores utilizados. Mediante un AMOVA realizado con el programa *Arlequin*, se obtuvo que las distancias genéticas ( $F_{st}$ ), entre ellas, eran significativamente distintas de 0, con un valor de 0,15 entre barrada y trigueña, 0,38 entre barrada y aperdizada, 0,27 entre barrada y negra, 0,28 entre trigueña y aperdizada, 0,23 entre trigueña y negra y 0,21 entre aperdizada y negra.

In 1986 it was completed a recovery of Catalan native chicken breeds: Penedesenca, Empordanesa and Prat. The work ended with the formation of subpopulations from each base populations recovered attending to the uniformity of color, which were not uniform in this aspect. Since then these subpopulations have remained in a conservation program of IRTA and have remained closed. They have continued in an activity in which the genealogies were controlled to prevent highly consanguineous matings, and some selection was made in order to maintain minimally productive parameters and morphology. After 25 years, it was estimated how genetic variability was maintained and how they are differentiated. Here we present the results in Penedesenca breed.

Separate subpopulations from base population of Penedesenca breed were the varieties black, partridge, wheaten and crele. They were obtained 41 samples of blood from the black variety, 33 from the partridge, 27 from the wheaten and 35 from the crele. DNA obtained from each sample

was analyzed for a set of 29 microsatellite markers, 28 of which are recommended by FAO, and those used in AVIANDIV project (<http://w3.tzv.fal.de/aviandiv>).

Inbreeding coefficients (  $F_{is}$  ) obtained in each variety were low, in the range of 0.12 in black variety, 0.07 in partridge, 0.08 in wheaten and 0.06 in crele. Everyone except that of the barred, were significantly different from 0.

It was studied if the four varieties or subpopulations were distinct populations. It was used the program Structure. Having considered the possibilities until  $K = 5$  (five populations) with the maximum likelihood test it was found that the maximum value  $\ln Pr ( X / K )$  as the average of 20 replicates within each  $K$  corresponded to  $K = 4$ , what agrees that the four varieties arising from the base population had resulted in distinct populations considering the markers used . A MANOVA performed by the Arlequin program was used to test differences among varieties, and to obtain the genetic distances ( $F_{st}$ ) among varieties, and to determine pairwise differences.  $F_{st}$  values were 0.15 between crele and wheaten, 0.38 between crele and partridge, 0.27 between crele and black, 0.28 between wheaten and partridge, 0.23 between wheaten and black, and 0.21 between partridge and black. All of them were significant.

---

**Palabras clave:** raza penedesenca; marcadores microsatélite; heterozigosidad; coeficientes de endogamia; distancias genéticas.

## Introducción

En los años 70 del siglo pasado, la FAO hizo un llamamiento a nivel mundial explicando la importancia de la conservación de las razas locales de animales domésticos destinados a la producción y advirtiendo de la necesidad de emprender programas para llevarla a cabo. En base a ello, en el 1985, el IRTA acogió unas actividades ya iniciadas (Jordà et al., 1984) de recuperación de razas de gallinas autóctonas catalanas (Penedesenca, Prat i Empordanesa) actuando en su conservación, caracterización y mejora genética (Francesch, 1997). Después de unos trabajos de estudio genético del color, uniformado de color y definición, las razas Penedesenca i Empordanesa quedaron estructuradas en cuatro subpoblaciones o variedades de color cada una (Francesch, 2006) con las que prosiguió el programa de conservación manteniéndolas en población cerrada.

Transcurridos 25 años nos propusimos estudiar la variabilidad genética existente en estas razas y variedades de las mismas, así como tener una idea de sus coeficientes de endogamia y de la diferenciación poblacional a nivel genético.

Desde 1989 los microsatélites de DNA, como fragmentos hipervariables del mismo y tratables como alelos de herencia codominante, han sido muy utilizados en estudios para hacer estimas de la variabilidad genética de poblaciones. Muy diferentes trabajos se han realizado en lo que se refiere a este tema en *Gallus domesticus*. Podemos citar a Croijmans et al. (1993 y 1996), Grone et al. (1994), Cheng et al.(1994), Hillel et al. (2003) como primeros trabajos y otros que han puesto a punto un conjunto de microsatélites que han sido muy utilizados.

Siendo así, se realizó el estudio propuesto utilizando microsatélites de DNA y en este trabajo presentamos los resultados obtenidos en las variedades barrada, trigueña, aperdizada y negra como subpoblaciones separadas de la población base de raza Penedesenca que era heterogénea en color cuando se recuperó.

## Material y métodos

Se utilizaron gallinas de las variedades negra, aperdizada, trigueña y barrada de la raza Penedesenca, que habían estado mantenidas en población cerrada durante 25 años después de haberse separado de la población recuperada buscando la homocigosis para el color de unos alelos del locus E (Francesch y Jordà, 1988). La variedad negra había seguido un programa de mejora genética para producción de huevos con el pedigrí controlado utilizando inseminación artificial en baterías individuales durante 14 años (Francesch, 2002) y durante este tiempo las demás variedades siguieron un programa con reproducción por monta natural al azar. Los efectivos de la variedad negra fueron una media de 250 gallinas en control por generación, con un coeficiente de selección promedio del 40 % y con apareamientos de un gallo para 10 gallinas en los que se evitaba el apareamiento de hermanos y medio hermanos. Los efectivos de las otras variedades fueron una media de 100 gallinas por generación sin selección y con un gallo para cada 10 gallinas que era escogido por morfología. En los 11 años restantes las 4 variedades han seguido un programa parecido con una media de 60 gallinas en control por generación, con un coeficiente de selección promedio del 85 % para mantener mínimamente los parámetros relacionados con la productividad y control de la genealogía mediante apareamientos mínimamente consanguíneos por inseminación artificial en baterías individuales de un gallo para 3 – 4 gallinas (Cartañà y Francesch, 2010).

Se escogieron 41 gallinas de la variedad negra, 33 de la variedad aperdizada, 35 de la variedad barrada y 27 de la variedad trigueña. Se evitó que entraran hermanas por parte materna.

Se extrajeron 2 ml de sangre de cada. La sangre se recogió en un vial con anticoagulante EDTA. Las muestras se conservaron en un congelador a -20 ° C hasta la extracción del DNA.

El aislamiento de DNA de las muestras se realizó a partir de 10 ul de sangre, siguiendo una modificación del método clásico de lisis con proteasas (Bailes et al., 2007). El DNA se cuantificó por espectrofotometría en un equipo Nanodrop-100 y se comprobó su calidad y pureza en geles de agarosa teñidos con tintes de bromuro de etidio. El DNA se diluyó en una solución tampón TE (10mm Tris HCl, pH 7.8, 1mm EDTA) a una concentración de 20 ng/ul y conservado a -20 ° C hasta su utilización.

Se seleccionaron 29 marcadores microsatélite de ADN basados en los utilizados en el proyecto europeo de AVIANDIV (Hillel et al., 2003) (<http://w3.tzv.fal.de/aviandiv/index.html>). Estos fueron MCW0069, MCW0111, MCW0248, ADL0268, MCW0020, MCW0206, MCW0034, LEI0234, MCW0103, LEI0166, MCW0037, MCW0222, MCW0016, LEI0094, MCW0098, MCW0295, MCW0081, MCW0014, MCW0183, ALD0278, MCW0078, ADL0112, MCW0067, MCW0104 y MCW0216.

La amplificación se realizó mediante una múltiplex PCR que permitió amplificar varios marcadores al mismo tiempo. Además, para optimizar las condiciones de la carrera electroforética, se utilizó un secuenciador automático ABI-3100 (Applied Biosystems), donde los *primers* en orientación *forward* se marcaron con cuatro fluorocromos diferentes. Esto permitió mezclar las reacciones multiplex para la resolución de varios microsatélites en una misma carrera electroforética. Se distribuyeron los 29 microsatélites en dos grupos de 10 y uno de 9.

Leídos los electroferogramas, los datos obtenidos fueron, en primer lugar, analizados con el programa Micro-Checker (Van Oosterhout et al., 2004) con la finalidad de detectar posibles errores y proceder a su corrección. A continuación los datos se analizaron con el programa Molkin (Gutiérrez et al., 2005) para la determinación de polimorfismo, frecuencias alélicas, heterocigosidades, coeficientes de endogamia Fis. La significación de las diferencias de 0 de los coeficientes Fis fue determinada mediante intervalos de confianza.

Se realizó un análisis jerárquico de la varianza molecular (AMOVA) con 10.000 permutaciones para obtener los índices de fijación genética y su significación, es decir, coeficiente global de diferenciación genética entre poblaciones (Fst), coeficiente de endogamia dentro de poblaciones (Fis) y coeficiente de endogamia total (Fit). Así mismo los coeficientes Fst de diferenciación genética entre cada par de poblaciones, que también son considerados como una medida de la distancia genética. Para ello se utilizó el programa Arlequin v 3.5 (Excoffier et al, 2005). Por otra parte, con el objetivo de comprobar si existían cuatro poblaciones diferenciadas de acuerdo con nuestros datos, se estimó el número más probable de poblaciones (K) y se realizó la asignación de individuos a éstas, mediante el software Structure v. 2.3, (Pritchard et al., 2000). Se usó el modelo *admixture* con frecuencias alélicas correlacionadas. Para este caso se fijaron 100.000 iteraciones (*burnin length*) y 1.000.000 iteraciones

MCMC (cadenas de Markov y Montecarlo), estableciéndose un rango de poblaciones  $2 \leq K \leq 5$ . Así, se llevaron a término 20 réplicas o simulaciones por cada K y se realizó un test de máxima verosimilitud basado en el valor máximo de  $\ln P(X/K)$  para determinar la K más probable, siendo X el vector de los genotipos observados.

## Resultados y discusión

Los microsatélites MCW0103 y MCW206 no amplificaron correctamente en el 40% de las muestras y no fueron utilizados en los análisis de resultados. Quizás ello pueda ser debido a la presencia de alelos nulos en ellos por lo que hace referencia a las poblaciones en estudio.

En la Tabla 1 se presenta, para cada variedad, el número observado y efectivo de alelos por locus, el número de alelos únicos, la riqueza alélica y el porcentaje de loci polimórficos.

Ninguna variedad mostró el 100% de microsatélites polimórficos, aunque se observaron unos porcentajes de polimorfismo altos. Las variedades barrada y trigueña mostraron un 92,6% de los marcadores polimórficos, mientras que el porcentaje de polimorfismo de las variedades negras y aperdizada fue algo superior, del 96,3%. De todas formas, considerando la raza, se observó polimorfismo en todos los loci.

En cuanto a número de alelos por locus, número efectivo de alelos y riqueza alélica los valores fueron bastante parecidos entre variedades. Concretamente, la riqueza alélica mostró un ligero mayor valor de 2,87 en la variedad trigueña y menor valor, de 2,39, en la variedad aperdizada. De todas formas, si consideramos la raza, la riqueza alélica fue de 4,58, que sería próxima a la que tendría la población base de partida y que de alguna manera se mantiene considerando globalmente las cuatro variedades. Así, sin poder descartar un efecto del tamaño muestral, la separación en variedades, como poblaciones cerradas, habría comportado una disminución de la riqueza alélica alrededor del 40 % dentro de cada una de ellas, ya sea por azar en el momento de separación y/o por deriva genética, sin descartar la mutación, con el tiempo transcurrido.

Todas las variedades presentaron alelos únicos o privados. Los valores oscilaron entre 13 en la trigueña y 5 en la aperdizada, lo que coincide con el mayor y menor valor de riqueza alélica. De todas formas ninguno de estos alelos presentó una frecuencia superior a 0,2, por lo que ninguno de ellos podría ser utilizado por sí mismo para la identificación de la población que lo presenta.

**Tabla 1.** Número de muestras (n), promedio de alelos observados por locus (A/locus) y número efectivo de alelos por locus (Ne/locus) con error estándar, número de alelos únicos, riqueza alélica y porcentaje de loci polimórficos en 27 marcadores microsatélite analizados en cuatro variedades de gallinas de raza Penedesenca.

| Variedad     | n   | A/locus ( $\pm$ SE) | Ne/locus ( $\pm$ SE) | A. únicos | Riqueza alélica | Loci polimórficos (%) |
|--------------|-----|---------------------|----------------------|-----------|-----------------|-----------------------|
| Barrada      | 35  | 3,41 $\pm$ 0,29     | 1,89 $\pm$ 0,12      | 10        | 2,66            | 92,6                  |
| Trigueña     | 27  | 3,41 $\pm$ 0,22     | 2,21 $\pm$ 0,16      | 13        | 2,87            | 92,6                  |
| Aperdizada   | 33  | 2,74 $\pm$ 0,21     | 1,91 $\pm$ 0,16      | 5         | 2,39            | 96,3                  |
| Negra        | 41  | 3,10 $\pm$ 0,25     | 2,15 $\pm$ 0,15      | 10        | 2,68            | 96,3                  |
| <b>Total</b> | 136 | 4,81 $\pm$ 0,35     | 2,40 $\pm$ 0,17      | -         | 4,58            | 100                   |

En la Tabla 2 se presentan los valores de las heterocigosidades medias esperadas, heterocigosidades medias observadas y coeficientes de endogamia medios Fis para cada una de las variedades.

En general, la heterocigosidad observada (Ho) resultó algo inferior a la esperada (He). Como consecuencia, los valores de los coeficientes de endogamia Fis resultaron positivos, pero muy cercanos a 0. No obstante, todos fueron significativamente distintos de 0 excepto el de la variedad barrada. Si bien se detecta que la variedad barrada tiende hacia un déficit de heterocigotos, ésta todavía no resultó significativa y podemos considerar que se encontraba en equilibrio Hardy-Weinberg. En las variedades trigueña y aperdizada el déficit de heterocigotos, aunque no importante, resultó significativo, lo que determina un ligero alejamiento del equilibrio Hardy-Weinberg. La variedad negra es la que mostró un coeficiente Fis algo más elevado, que podría ser debido a que durante 14 años fue seleccionada más intensamente para aumentar la puesta. Globalmente podríamos considerar que la reproducción en

población cerrada ha contribuido en el aumento de los coeficientes de consanguinidad, pero por los valores que tomó Fis es de considerar que estos aumentos han sido bajos considerando el tiempo transcurrido, aun suponiendo el equilibrio Hardy-Weinberg en la población base, lo que pone en evidencia una buena gestión genética en el programa de conservación.

**Tabla 2.** Heterocigosidades medias esperadas (He), observadas (Ho) y coeficientes de endogamia medios (Fis) en cuatro variedades de gallinas de raza Penedesenca considerando las frecuencias alélicas de 27 marcadores microsatélite.

| Variedad   | Ho ± SD     | He ± SD     | Fis   |
|------------|-------------|-------------|-------|
| Barrada    | 0,38 ± 0,22 | 0,40 ± 0,21 | 0,06  |
| Trigueña   | 0,43 ± 0,25 | 0,47 ± 0,21 | 0,08* |
| Aperdizada | 0,37 ± 0,20 | 0,40 ± 0,20 | 0,07* |
| Negra      | 0,41 ± 0,25 | 0,46 ± 0,22 | 0,12* |

\*Significativamente distinto de 0 ( $P \leq 0,05$ )

En la Tabla 3 se presentan los resultados del AMOVA, que nos indica que el 25,95 % de la varianza total fue debida a la diferencia entre variedades, lo que supone un coeficiente Fst de 0,26, que es significativo y alto. No obstante el mayor porcentaje de varianza y también significativo, aunque no exageradamente alto se obtuvo dentro de los individuos y el menor, también significativo, fue debido a las diferencias entre individuos dentro de poblaciones.

**Tabla 3.** Análisis jerárquico de varianza molecular (AMOVA) de la variación genética de cuatro variedades de gallinas de raza Penedesenca considerando las frecuencias alélicas de 27 marcadores microsatélite.

| Fuente de variación                   | g.l. | Suma de cuadrados | Componentes de varianza | Porcentaje de varianza | Índices de fijación |
|---------------------------------------|------|-------------------|-------------------------|------------------------|---------------------|
| Entre variedades                      | 3    | 65,273            | 0,307                   | 25,95                  | Fst: 0,26 ***       |
| Entre individuos dentro de variedades | 132  | 132,135           | 0,124                   | 10,44                  | Fis: 0,14 ***       |
| Dentro de individuos                  | 136  | 102,500           | 0,754                   | 63,61                  | Fit: 0,36 ***       |
| Total                                 | 271  | 299,908           | 1,185                   |                        |                     |

\*\*\* Significativo ( $P \leq 0,0001$ ). Fst: coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones; Fis: coeficiente de endogamia dentro de poblaciones; Fit: coeficiente de endogamia total.

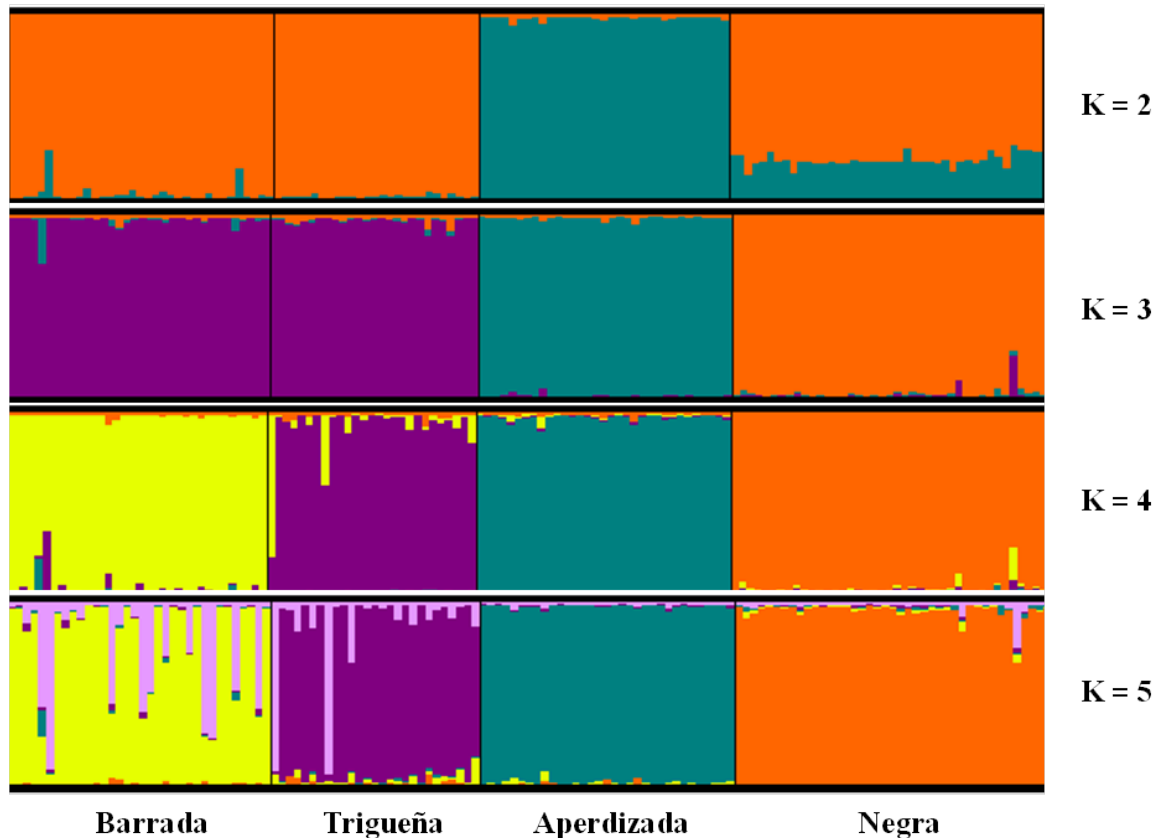
Una vez visto que las diferencias o distancias genéticas entre variedades fueron significativas, presentamos en la Tabla 4 los valores Fst entre pares de variedades, que resultaron todos significativos poniendo de manifiesto que en el momento actual las cuatro variedades de la raza de gallinas Penedesenca muestran diferencias genéticas que van más allá de las simples diferencias entre los alelos de los loci de color. El valor más alto y grande se obtuvo entre las variedades barrada y aperdizada, mientras que el más bajo entre la barrada y la trigueña. Se pueden considerar también grandes o bastante grandes las diferencias entre el resto de variedades.

**Tabla 4.** Distancias genéticas Fst entre pares de poblaciones en la comparación de cuatro variedades de gallinas de raza Penedesenca considerando las frecuencias alélicas de 27 marcadores microsatélite.

| Variedad   | Barrada | Trigueña | Aperdizada | Negra |
|------------|---------|----------|------------|-------|
| Barrada    | -       |          |            |       |
| Trigueña   | 0,15    | -        |            |       |
| Aperdizada | 0,38    | 0,28     | -          |       |
| Negra      | 0,27    | 0,23     | 0,21       | -     |

Todos los valores son significativos ( $P \leq 0,05$ )

En general se pone en evidencia que las cuatro variedades pueden conservar una variabilidad genética importante y la variabilidad genética de la raza queda potenciada por el conjunto de las cuatro variedades.



**Imagen 1.** Representación de la estructura poblacional de la raza de gallinas Penedesenca en la que se prueba si las cuatro variedades de color pueden considerarse poblaciones distintas. Se consideran las posibilidades de 2 a 5 poblaciones (K). Cada individuo es representado por una columna vertical que puede dividirse en segmentos de diferente color indicando la fracción de afiliación de cada individuo a cada población.

En la Imagen 1 se presentan los resultados del programa Structure después de haber analizando los datos suponiendo que el conjunto pudiera formar 2, 3, 4 ó 5 poblaciones. En el momento que se consideraron dos poblaciones la variedad aperdizada quedó separada de las otras tres. Al considerarse 3 poblaciones se separaron la aperdizada y la negra entre ambas y las dos de la trigueña y barrada que no se separaron. Cuando se consideró la posibilidad de 4 poblaciones la separación coincidió con las cuatro variedades. Ya cuando se forzó a la posibilidad de 5 no se observa la posibilidad de formar un nuevo grupo uniforme. Por tanto, con los resultados del Structure fue posible ver la separación de las cuatro variedades como poblaciones distintas y coincide en que, de acuerdo con los datos que presentamos en la tabla 5, los cuatro grupos explicarían la estructura poblacional más verosímil. El orden en que se van separando las variedades conforme se aumenta el número de poblaciones exigido está de acuerdo con la magnitud de las distancias genéticas presentadas en la Tabla 4.

**Tabla 5.** Valores de  $\ln P(X/K)$  para cada número de poblaciones (K) consideradas en la imagen 1. Se observa que K=4 ha resultado más verosímil.

| K | $\ln P(X/K)$ |
|---|--------------|
| 2 | - 6037       |
| 3 | - 5533       |
| 4 | - 5319 *     |
| 5 | - 5327       |

\*Valor más alto

## Referencias

- BAILES, S.M., J.J. DEVERS, J.D. KIRBY and D.D. RHOADS, (2007).** An inexpensive, simple protocol for DNA isolation from blood for high-throughput genotyping by polymerase chain reaction or restriction endonuclease digestion. *Poult. Sci.*;86(1):102-106.
- CARTAÑÀ, M. y A. FRANCESCH (2011).** Gestión de libros genealógicos en las razas de gallinas catalanas. *Archivos de Zootecnia* 58: 489 – 491.
- CHENG H.H. and CRITTENDEN L.B., (1994).** Microsatellite markers for genetic mapping in the chicken. *Poult. Sci.* 73: 539\_546.
- CROOIJMANS R.P.M.A., VAN KAMPEN A.J.A., VAN DER POEL J.J., and GROENEN M.A.M., (1993).** Highly polymorphic microsatellite markers in poultry, *Anim. Genet.* 24: 441\_443.
- CROOIJMANS R.P.M.A., GROEN A.F., VAN KAMPEN A.J.A., VAN DER BEEK S., VAN DER POEL J.J., and GROENEN M.A.M., (1996).** Microsatellite polymorphism in commercial broiler and layer lines estimated using pooled blood samples, *Poult. Sci.* 75 (1996)
- EXCOFFIER, L., G. LAVAL and S. SCHNEIDER, (2005).** Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- FRANCESCH, A. (1997).** Funcionamiento de la conservación de razas de gallinas autóctonas en Cataluña. *Archivos de Zootecnia* 47 (178 – 179): 141 – 148.
- FRANCESCH, A. (2002).** Mejora genética de razas de gallinas catalanas. *ITEA Vol. 98 A N°2* (173 – 184).
- FRANCESCH, A. (2006).** Gallinas de raza. Segunda Edición. Editorial Arte Avícola. Valls (Tarragona).
- FRANCESCH, A. y A. JORDA (1988).** La raza de gallinas del Penedés: Una labor de hoy que conecta con el pasado. *Selecciones Avícolas.* Vol. XXX (10): 307-314.
- GROEN A.F., CROOIJMANS R.P.M.A., VAN KAMPEN A.J.A., VAN DER BEEK S., VAN DER POEL J.J., and GROENEN M.A.M., (1994).** Microsatellite polymorphism in commercial broiler and layer lines. *Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, Vol. 21: 94-97.
- GUTIÉRREZ, J.P., L.J. ROYO, I. ÁLVAREZ and F. GOYACHE, (2005).** MolKin v 2.0: a computer program for genetic analysis of populations using molecular coancestry information. *Journal of Heredity*, 96: 718-721.
- HILLEL, J., M.A.M. GROENEN, M. TIXIER-BOICHARD, A.B. KOROL, L. DAVID, V.M. KIRZHNER, T. BURKE, A. BARRE-DIRIE, R.P. CROOIJMANS, K. ELO, M.W. FELDMAN, P.J. FREIDLIN, A. MAKI-TANI, M. OORTWIJN, P. THOMSON, A. VIGNAL, K. WIMMERS, and S. WEIGEND, (2003).** Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. *Genet. Sel. Evol.* 35:533–557.
- JORDÀ, A., R. GONZÁLEZ, A. FRANCESCH y J. BRUFAU (1984).** Recuperación y conservación de razas de gallinas autóctonas en Cataluña. *Memoria del XXII Symposium Científico WPSA (sección española)*. pp 173 – 180.
- PRITCHARD, J. K., M. STEPHENS and P. DONNELLY, (2000).** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
- VAN OOSTERHOUT, C., W.F. HUTCHINSON, D.P.M. WILLS and P.F. SHIPLEY, (2004).** MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol. notes* 4: 535-538.