

Diversidad Genética del Caballo Criollo (*Equus caballus*) mediante Genes Asociados al Pelaje en Valencia, Colombia

GENETIC DIVERSITY OF THE CRIOLLO HORSE (*Equus caballus*) BY GENES ASSOCIATED
TO THE SKIN COAT IN VALENCIA, COLOMBIA

Wilson Yepes¹, Enrique Pardo Pérez^{1,2}, Luis Alfonso Causil Vargas¹

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar la variabilidad genética de caballos criollos (*Equus caballus*) mediante genes asociados al pelaje. Se realizaron muestreos entre enero y mayo de 2016 en cinco poblaciones de la ciudad de Valencia, Colombia. Se realizó la caracterización fenotípica de los animales adultos presentes en las fincas, atendiendo a los marcadores autosómicos de codificación morfológica *Extension*, *Agouti*, *Cream*, *Gris*, *White*, *Tobiano*, *Overo* y *Roan*. Los resultados mostraron ausencia de los marcadores *White* y *Overo*, mientras que los marcadores *Extension* y *Agouti* fueron los de mayores frecuencias, posiblemente favorecidas por selección artificial, debido a temperamento y astucia, respectivamente. Las poblaciones se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg, exhibieron exceso de homocigotos y altos valores de flujo genético.

Palabras clave: caballo; frecuencia alélica; heterocigosidad; equilibrio Hardy-Weinberg; hábitat

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the genetic variability of criollo horses (*Equus caballus*) by genes associated with the coat. Fields visits were done between January and May 2016 in five populations of the municipality of Valencia, Colombia. The phenotypic characterization of the adult animals present in the farms was performed in relation to the autosomal markers of morphological codification *Extension*, *Agouti*, *Cream*, *Gris*, *White*, *Tobiano*, *Overo* and *Roan*. The results showed absence of the markers *White* and *Overo*, whereas the markers *Extension* and *Agouti* had the largest frequencies, possibly favored by artificial selection due to temperament and cunning respectively.

¹ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Córdoba, Colombia

² E-mail: epardop@correo.unicordoba.edu.co

Recibido: 19 de octubre de 2016

Aceptado para publicación: 24 de febrero de 2017

Populations were found in equilibrium Hardy-Weinberg and showed excess of homozygotes and high levels of gene flow.

Key words: horse; allelic frequency; heterozygosity; Hardy-Weinberg equilibrium; habitat

INTRODUCCIÓN

Poblaciones actuales de caballo criollo americano (*Equus caballus*) constituyen las poblaciones remanentes introducidas al Nuevo Mundo por los conquistadores europeos, donde se asume que la fuente original fue la Península Hispánica (Jansen *et al.*, 2002). Es por esta razón que sería de esperar que los caballos criollos estuvieran genéticamente relacionados con las razas andaluzas, españolas de origen celta, berberiscas y árabes (Giovambattista *et al.*, 2010).

El interés sobre el patrón de herencia del color del manto en caballos fue uno de los primeros rasgos que demuestran la validez de las leyes de Mendel en los mamíferos. La variación del color depende principalmente de la melanina, la cual se produce en forma de gránulos de pigmento en los melanocitos, que son células que se encuentran en los folículos pilosos en piel, diafragma, y algunos tejidos internos (Finn *et al.*, 2016). La herencia del color en caballos ha sido estudiada principalmente desde una perspectiva cualitativa y son controlados por unos pocos genes, donde su expresión es el resultado de muchas interacciones a lo largo de la historia (Toth *et al.*, 2006).

Los distintos patrones del pelaje en general, expresados como marcadores fenotípicos, han sido de gran importancia para el estudio de poblaciones, debido a que son fácilmente reconocibles; razón por la cual es relativamente sencillo seguir el patrón de herencia de generación en generación (Thiruvankadan *et al.*, 2008). Por lo tanto, estos marcadores se han convertido en mo-

delo para el estudio de las acciones e interacciones genéticas, no solo para explicar la estructura poblacional, sino que también podrían explicar algunas relaciones etológicas como fenotipo-comportamiento (Finn *et al.*, 2016).

Se requiere evaluar la variabilidad genética y el flujo de genes dentro de la población antes de la puesta en práctica de programas de selección, a fin de establecer una adecuada gestión del patrimonio genético. En la cría doméstica de equinos, algunos parámetros demográficos simples, que dependen en gran medida de la política de gestión y el apareamiento, tienen un gran impacto de la variabilidad genética. Además, el estudio de la estructura de la población y la demografía puede poner de relieve las circunstancias importantes que afectan la historia genética de la población (Valera *et al.*, 2005).

Un estudio reciente reveló la estructura genética de poblaciones de caballos (*Equus caballus*) en el departamento de Córdoba (Correa *et al.*, 2015), donde se analizaron 341 individuos en las siete poblaciones estudiadas, siendo el marcador *Extension* el de mayor frecuencia, mientras los genes *Overo* y *Tobiano* presentaron los menores valores. Se registraron cifras poco significativas de variabilidad genética a nivel global y poblacional; así mismo, se obtuvo una escasa diferenciación genética entre las poblaciones, acompañado de un elevado flujo génico. Estos resultados corroboran la importancia de este tipo de estudios, razón por el cual el objetivo de esta investigación fue evaluar la variabilidad genética del caballo doméstico (*Equus caballus*), usando genes asociados al pelaje en Valencia, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de Estudio

El estudio se realizó en el municipio de Valencia, ubicado al suroccidente del departamento de Córdoba, Colombia. Presenta una temperatura promedio anual de 30 °C, altura promedio de 55 msnm, y una extensión de 914 km². Se muestrearon cinco corregimientos: Valencia, Villa Nueva, Jaraguay, El Reposo y San Rafael del Pirú.

Obtención de Datos

El muestreo se realizó entre enero y mayo de 2016 mediante excursiones rurales. Se muestrearon animales adultos presentes en las fincas de cada población, donde se caracterizó fenotípicamente cada animal atendiendo a los marcadores autosómicos de codificación morfológica: *Extension*, *Agouti*, *Cream*, *Gris*, *White*, *Tobiano*, *Overo* y *Roan*, siguiendo la metodología propuesta por Bartolomé *et al.* (2008).

Diseño Estadístico

Se estimaron las frecuencias alélicas por marcador a nivel poblacional y global, así como las medidas de diversidad genética de Nei (1972) como diversidad genética total (H_T), diversidad dentro de las poblaciones (H_S), diversidad entre poblaciones (D_{ST}), coeficiente de diversidad genética (G_{ST}), flujo génico (Nm), equilibrio Hardy-Weinberg y la distancia genética entre las poblaciones, utilizando el programa PopGene 1.31 (Yeh *et al.*, 1999). La estructura genética de las poblaciones, atendiendo los índices de fijación propuestos por Wright (F_{IS} , F_{IT} , F_{ST}) se calculó mediante el programa FSTAT v. 2.9.3.2 (Goudet, 2001).

El dendrograma se obtuvo a partir de la matriz distancia genéticas mediante el programa MEGA7 (Kumar *et al.*, 2016) y el análisis de componentes principales (PCA) se realizó utilizando el programa Past 3.11 (Hammer *et al.*, 2001).

RESULTADOS

Se muestrearon 330 individuos distribuidos en cinco poblaciones: Valencia (n=93), Villa Nueva (n=65), Jaraguay (n=33), El Reposo (n=90) y San Rafael del Pirú (n=49). Solo 6 de los 8 marcadores utilizados en esta investigación estuvieron presentes en las poblaciones en estudio.

Las frecuencias alélicas para cada población (Cuadro 1) mostró que el marcador *Extension* ($p=0.802$) fue el más frecuente, seguido de *Agouti* ($p=0.392$), mientras que *Cream* evidenció los valores más bajos ($p=0.071$). Hubo ausencia de los marcadores *White* (*W*) y *Overo* (*O*), mientras que *Tobiano* (*T*) y *Roano* (*R*) solo se hallaron en 3 de las 5 poblaciones.

El índice de variabilidad genética a nivel global fue bajo ($H_T=0.148$) (Cuadro 2). El marcador *Agouti* mostró el índice de diversidad más alta ($H_T=0.474$), seguido de *Extension* ($H_T=0.2401$), a diferencia de *Tobiano* que presentó la menor heterocigosidad. La diversidad dentro de las poblaciones ($H_S=0.147$) fue mayor que entre las poblaciones ($D_{ST}=0.008$). El nivel de diferenciación genética entre las poblaciones de caballos domésticos criollos fue bajo ($G_{ST}=0.002$). El valor de flujo génico ($Nm=44.4$) evidenció que las poblaciones mantienen un alto grado de intercambio genético, dado que valores de flujo génico mayores a 1 sugieren que las poblaciones se comportan como una metapoblación.

El Cuadro 3 muestra que todos los marcadores reportaron la existencia de equilibrio de Hardy-Weinberg.

Los valores negativos obtenidos para el estadístico F_{IS} en todos los marcadores revela un exceso de heterocigotos de los individuos con respecto a cada población (Cuadro 4) y, por lo tanto, hace suponer la ausencia de consanguinidad dentro de las poblaciones, con valores que oscilan entre -0.667 para el

Cuadro 1. Frecuencia alélica de los marcadores en las poblaciones de caballos domésticos en Valencia, Colombia (2016)

Poblaciones	N.º	<i>E</i>	<i>A</i>	<i>C</i>	<i>W</i>	<i>G</i>	<i>O</i>	<i>T</i>	<i>R</i>
Valencia	93	0.793	0.395	0.073	0.000	0.132	0.000	0.005	0.000
Villa Nueva	65	0.785	0.321	0.123	0.000	0.114	0.000	0.000	0.008
Jaraguay	33	0.826	0.326	0.079	0.000	0.165	0.000	0.015	0.031
El Reposo	90	0.789	0.442	0.057	0.000	0.099	0.000	0.022	0.045
San Rafael del Pirú	49	0.857	0.447	0.021	0.000	0.143	0.000	0.000	0.000
Total	330	0.802	0.392	0.071	0.000	0.124	0.000	0.009	0.017

N.º: individuos muestreados; *E*: *Extension*; *A*: *Agouti*; *C*: *Cream*; *W*: *White*; *G*: *Gris*; *O*: *Overo*; *T*: *Tobiano*; *R*: *Roano*

Cuadro 2. Distribución de la diversidad genética en los marcadores genéticos en poblaciones de caballos domésticos en Valencia, Colombia (2016)

Marcador	H _T	H _S	D _{ST}	G _{ST}	N _m
<i>Extension</i>	0.307	0.306	0.005	0.001	99.9
<i>Agouti</i>	0.474	0.468	0.012	0.005	39.4
<i>Cream</i>	0.130	0.128	0.016	0.002	29.3
<i>White</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0
<i>Gris</i>	0.227	0.226	0.004	0.001	109.2
<i>Overo</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0
<i>Tobiano</i>	0.017	0.016	0.009	0.002	53.6
<i>Roano</i>	0.033	0.032	0.020	0.007	24.2
Media	0.148	0.147	0.008	0.002	44.4

H_T = diversidad genética total; H_S = diversidad dentro de las poblaciones; D_{ST} = diversidad entre poblaciones; G_{ST} = coeficiente de diversidad genética; N_m = flujo génico

marcador *Tobiano* y -0.020, para el marcador *Extension*. El estadístico F_{IT}, de igual forma, refleja un exceso de heterocigotos de los individuos con respecto a la población total. Por otro lado, el valor promedio de F_{ST} resultó ser bajo (0.002); lo que podría indicar que no existe diferenciación génica significativa entre las poblaciones.

La distancia genética obtenida entre las poblaciones fue baja, siendo Valencia y El Reposo las poblaciones más cercanas (Cuadro 5), mientras que Villa Nueva y San Rafael del Pirú fueron las de mayor diferencia génica, cifra poco significativa, pues no superó el 10%. Es así, que la población de Jaraguay presentó los mayores valores de

Cuadro 3. Equilibrio de Hardy-Weinberg para los marcadores utilizados en poblaciones de caballos domésticos en Valencia, Colombia (2016)

Marcador	Chi-cuadrado	Grados de libertad
<i>E</i>	0.001	1
<i>A</i>	0.000	1
<i>C</i>	0.001	1
<i>W</i>	0.000	1
<i>G</i>	0.001	1
<i>O</i>	0.000	1
<i>T</i>	0.000	1
<i>R</i>	0.000	1

E: Extension; *A*: Agouti; *C*: Cream; *W*: White; *G*: Gris; *O*: Overo; *T*: Tobiano; *R*: Roano

distancia genética en comparación con el resto de las poblaciones.

El dendograma de la Figura 1 evidencia la similitud genética entre las poblaciones de Valencia y El reposo, a las cuales se asocia la población de San Rafael. Por otro lado, la población de Villa Nueva revela una cercanía con Jaraguay, pero con un valor de distancia poco significativo, que permite concluir que las poblaciones están muy relacionadas.

Mediante el Análisis de Componentes Principales (ACP) realizado a partir de las frecuencias alélicas, las componentes principales CP1 y CP2 explican el 87.5% de la variabilidad total entre las poblaciones, agrupando las poblaciones del norte y separándolas de las poblaciones del centro y sur de la ciudad, y la población de Valencia se ubica como punto medio entre las zona norte y sur (Figura 2).

DISCUSIÓN

La falta de caballos con alelos *White* y *Overo* puede obedecer a que su expresión se da en individuos heterocigotos, ya que condición homocigótica expresan letalidad, produciendo la muerte en estado embrionario (Thiruvankadan *et al.*, 2008).

Los genes responsables del color del pelaje controlan la cantidad y distribución de pigmentos de melanina en la piel y el pelo. En muchas especies de mamíferos, estos mismos genes expresan fenotipos que a menudo tienen efectos pleiotrópicos sobre el comportamiento; habiéndose encontrado recientemente esta relación entre fenotipos del pelaje y comportamiento en caballos (Finn *et al.*, 2016). Esos resultados sugieren que los altos valores de las frecuencias encontrados en este estudio en los marcadores *Extension* y *Agouti*, se podrían explicar por esta relación, ya que se ha demostrado que los caballos castaños son más propensos a acercarse a objetos y animales en su ambiente, independientemente de su familiaridad. Esto sugiere que la selección para el fenotipo castaño podría verse favorecido por factores como la audacia y la forma de cómo interactúan con su entorno. Jacobs *et al.* (2016) encontraron una asociación entre el genotipo y el temperamento, que puede influir en la forma como los seres humanos interactúan con los caballos.

Los resultados de este estudio concuerdan con una investigación realizada en Ciénaga de Oro, Córdoba (Correa *et al.*, 2015), donde el marcador *Extension* fue el más frecuente y sus resultados se fundamentan en el hecho de que las variantes alélicas responsables de las coloraciones oscuras se ven favorecidas en comparación con aquellas que expresan tonalidades claras; además, la capacidad de absorción de radiación calórica es más eficiente en animales de capa oscura que en aquellos de tonalidades claras, lo que

Cuadro 4. Valor de los estadísticos F para cada marcador autosómico de codificación morfológica a nivel global

Marcador	F _{IS}	F _{IT}	F _{ST}
<i>Extension</i>	-0.020	-0.018	0.002
<i>Agouti</i>	-0.243	-0.234	0.007
<i>Cream</i>	-0.469	-0.562	0.003
<i>White</i>	0.000	0.000	0.000
<i>Gris</i>	-0.610	-0.507	0.002
<i>Overo</i>	0.0000	0.000	0.000
<i>Tobiano</i>	-0.667	-0.666	0.003
<i>Roano</i>	-0.638	-0.536	0.001
Media	-0.330	-0.315	0.002

Cuadro 5. Matriz de distancias genética de Nei entre poblaciones de caballos domésticos en Córdoba, Colombia (2016)

Poblaciones	1	2	3	4	5
Valencia	-----				
Villa Nueva	0.0018	-----			
Jaraguay	0.0017	0.0015	-----		
El Reposo	0.0012	0.0045	0.0042	-----	
San Rafael del Pirú	0.0018	0.0065	0.0040	0.0019	-----

permite suponer que los caballos oscuros, están mejor adaptados a las condiciones imperantes en el clima tropical.

La diversidad de las especies domésticas es considerada como un importante componente de la biodiversidad global. El pool génico de las razas criollas puede haber conservado genes o combinaciones de genes que se han perdido en aquellas razas donde los seres humanos tienden a seleccionar ciertos fenotipos. Las poblaciones criollas son consideradas como un valioso patrimonio cultural, histórico y genético de los diferentes países americanos; sin embargo, la mayoría de las razas criollas vienen pasando por una drás-

tica reducción en el tamaño poblacional, estando muchas de ellas en riesgo de extinción (Giovambattista *et al.*, 2010); hecho que podría explicar el bajo valor de diversidad

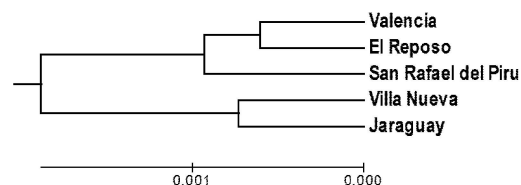


Figura 1. Dendrograma UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) obtenido a partir de la distancia genética de Nei en poblaciones de caballos de Valencia, Colombia (2016)

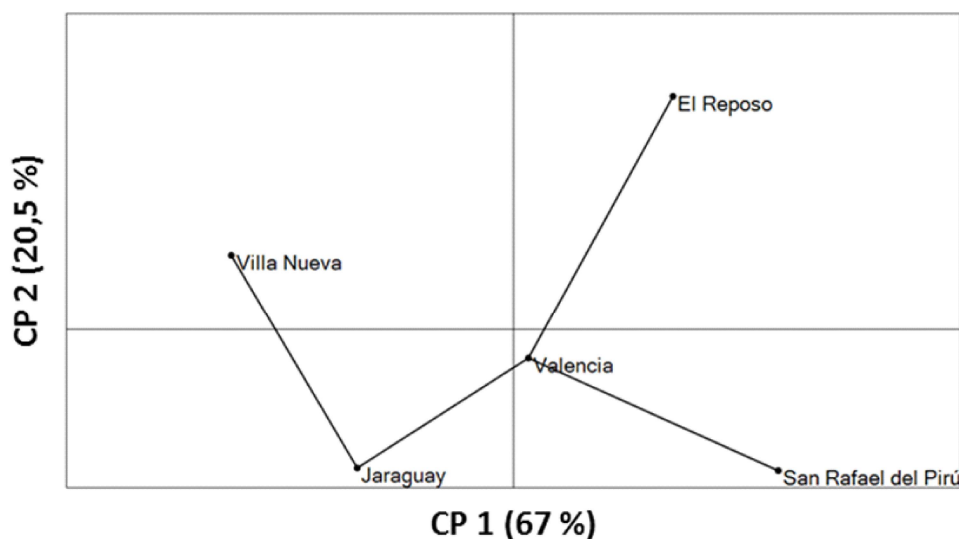


Figura 2. Análisis de Componentes Principales (ACP) de las poblaciones de caballos domésticos en Velancia, Colombia (2016)

genética total (H_T) encontrada en la población.

En el presente estudio, el valor de diversidad genética total ($H_T = 0.1488$) fue menor a lo reportado por Kelly *et al.* (2002) en el análisis serológico de siete grupos sanguíneos y nueve polimorfismos bioquímicos en 145 caballos criollos de Uruguay (0.295 a 0.443). Asimismo, presenta poca diferencia con el reporte de Correa *et al.* (2015), quienes registran para el municipio de Ciénaga de Oro, Córdoba, una heterocigosidad total de 0.1542 en el análisis de ocho genes morfológicos. Aunque la heterocigosidad esperada total es directamente proporcional al número de alelos por marcador, el bajo valor de H_T en los caballos del municipio de Valencia puede ser causado por la poca variación entre las poblaciones analizadas ($G_{ST} = 0.0085$).

El índice de diferenciación génica (G_{ST}) indicaría que el 0.2% de la variación detectada se debe a diferencias entre poblaciones, mostrando la ausencia de subestructuración poblacional, debido a la homogeneización por

el elevado valor de flujo genético encontrado ($Nm = 44.4$). Puesto que todas las poblaciones se comportan como una sola, es conveniente que se traten los datos como una metapoblación (Correa *et al.*, 2015)

Se ha reportado que el rango de heterocigosidad presentado para razas equinas domésticas va de 0.295 a 0.443 (Kelly *et al.*, 2002). En nuestro estudio, este valor fue bastante bajo, dado que todas las poblaciones se comportan como una sola. Al no existir una subestructura en la población, se podría percibir que la homogeneización por flujo genético parece muy factible y sería la causa principal de que la subestructura poblacional se deprecie, y se hagan los respectivos análisis como una metapoblación (Causil *et al.*, 2016).

Los resultados de los índices de fijación F_{IS} y F_{IT} en este estudio, revelan el exceso de heterocigotos, lo cual estaría en concordancia con un elevado flujo genético, mostrando la existencia de un elevado intercambio de genes, lo cual evita eventos de endogamia dentro de las poblaciones (Pardo *et al.*, 2015).

Los bajos valores de las distancias genéticas obtenidas entre las poblaciones estudiadas podrían obedecer a la cercanía geográfica, como ha sido demostrado previamente (Cruz-Salazar *et al.*, 2014). Por otro lado, el proceso de domesticación ha podido fijar algunos genes debido a preferencias antrópicas, por lo que caballos con un objetivo de cría concreto (trabajo doméstico) no estarían genéticamente muy diferenciados con respecto a los demás (Hyland, 2003). Este hecho podría explicar las relaciones existentes encontradas, evidenciados en el dendograma, puesto que todas las poblaciones se comportan como una sola, y de allí la cercanía genética entre todas.

CONCLUSIONES

- Los marcadores fenotípicos *Extension* y *Agouti* fueron los de mayor frecuencia en las poblaciones de caballos domésticos en Valencia, Colombia, posiblemente favorecidos por selección artificial, debido a temperamento y astucia, respectivamente.
- Los bajos valores de variabilidad genética y el alto grado de flujo génico sugieren que las subpoblaciones se encuentran muy relacionadas genéticamente y se comportan como una metapoblación.
- Todos los marcadores estudiados se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg.

LITERATURA CITADA

1. **Aranguren-Méndez J, Román R, Isea W, Villasmil Y, Jordana J. 2005.** Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. *Arch Latinoam Prod Anim.* 13: 1-6.
2. **Bartolomé E, Azor P, Gómez M, Peña F. 2008.** La determinación genética del color de la capa en el caballo: bases y aplicación al caballo de la raza Pottoka. Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, España. [Internet]. Disponible en: http://pottoka.info/files/galeria/Genetica_color_capa_pottoka.pdf
3. **Causil L, De La Barrera A, Causil O. 2016.** Diversidad genética de palomas domésticas (*Columba livia*) en Lórica, Colombia, utilizando genes que codifican la coloración del plumaje. *Rev Inv Vet Perú* 27: 448-457. doi: 10.15381/rivep.v27i3.11476
4. **Cruz-Salazar B, Ruiz-Montoya L, Navarrete-Gutiérrez D, Espinoza-Medinilla EE, Vázquez-Domínguez E, Vázquez LB. 2014.** Diversidad genética y abundancia relativa de *Didelphis marsupialis* y *Didelphis virginiana* en Chiapas, México. *Rev Mex Biodiv* 85: 251-261. doi: 10.7550/rmb.36116
5. **Finn JL, Haase B, Willet CE, van Rooy D, Chew T, Wade CM, Hamilton N, Velie BD. 2016.** The relationship between coat colour phenotype and equine behaviour: a pilot study. *Appl Anim Behav Sci* 174: 66-69. doi: 10.1016/j.applanim.2015.11.004
6. **Giovambattista G, Rogberg-Muñoz A, Ripoli MV, Villegas-Castagnasso EE, Díaz S, Posik DM, et al. 2010.** La genética molecular de bovinos y equinos criollos en los albores del siglo XXI. *BAG J Basic Appl Gen* 21(Supl 1): 1-14.
7. **Goudet J. 2001.** FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Version 2.9.3. 2001. [Internet]. Available in: <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>
8. **Hammer O, Harper DAT, Ryan PD. 2001.** PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeont Electr* 4(1): 9.
9. **Hyland A. 2003.** The horse in the ancient world. Gloucestershire, England: Sutton Pub. 210 p.
10. **Jacobs LN, Staiger EA, Albright JD, Brooks SA. 2016.** The MC1R and ASIP coat color loci may impact behavior in the horse. *J Hered* 107: 214-219. doi: 10.1093/jhered/esw007

11. **Jansen T, Forster P, Levine MA, Oelke H, Hurler M, Renfrew C, Weber J, Olek, K. 2002.** Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. *Proc Natl Acad Sci* 99: 10905-10910. doi: 10.1073/pnas.152330099
12. **Kelly L, Postiglioni A, De Andres D, Gagliardi R, Biagetti R, Franco J. 2002.** Variabilidad genética de los caballos Criollos del Uruguay. *Arch Med Vet* 34: 13-23. doi: 10.4067/S0301-732X2002000100002
13. **Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016.** MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol* 33: 1870-1874. doi: 10.1093/molbev/msw054
14. **Correa LS, Reyes A, Pardo E, Cavadía M. 2015.** Genetic diversity detection of the domestic horse (*Equus caballus*) by genes associated with coat color. *Rev MVZ Córdoba* 20: 4779-4789.
15. **Nei M. 1972.** Genetic distance between populations. *Am Nat* 106: 283-292.
16. **Pardo E, Causil L, Rodríguez A. 2015.** Estudio de la diversidad genética de gato doméstico (*Felis catus*) mediante genes asociados al color del pelaje en Lorica-Córdoba, Colombia. *Arch Zootec* 64: 389-395.
17. **Thiruvankadan A, Kandasamy N, Panneerselvam S. 2008.** Coat colour inheritance in horses. *Livest Sci* 117: 109-129. doi: 10.1016/j.livsci.2008.05.008
18. **Toth Z, Kaps M, Soelkner J, Bodo I, Curik I. 2006.** Quantitative genetic aspects of coat color in horses. *J Anim Sci* 84: 2623-2628. doi: 10.2527/jas.2005-704
19. **Valera M, Molinab A, Gutiérrez J, Gómez J, Goyache F. 2005.** Pedigree analysis in the Andalusian horse: population structure, genetic variability and influence of the Carthusian strain. *Livest Prod Sci* 95: 57-66. doi: 10.1016/j.livprodsci.2004.12.004
20. **Yeh F, Yang R, Boyle T. 1999.** POPGENE: Microsoft Windows-based freeware for population genetic analysis, version 1.31. University of Alberta, Edmonton, Canada. [Internet]. Available in: <https://sites.ualberta.ca/~fyeh/popgene.pdf>