

Análisis de paternidad y mejoramiento genético en bovinos



Dra. Johanna Leiva



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA



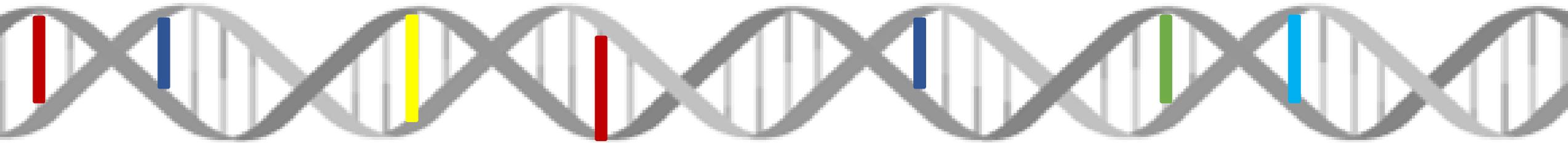
UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO CEARÁ



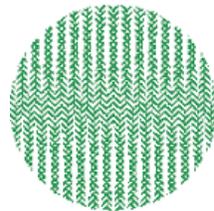
CONSEJO NACIONAL
**DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA**



PROGRAMA PARAGUAYO PARA EL DESARROLLO DE LA CIENCIA Y TECNOLOGÍA



UNIVERSIDAD DE
MURCIA



INRA

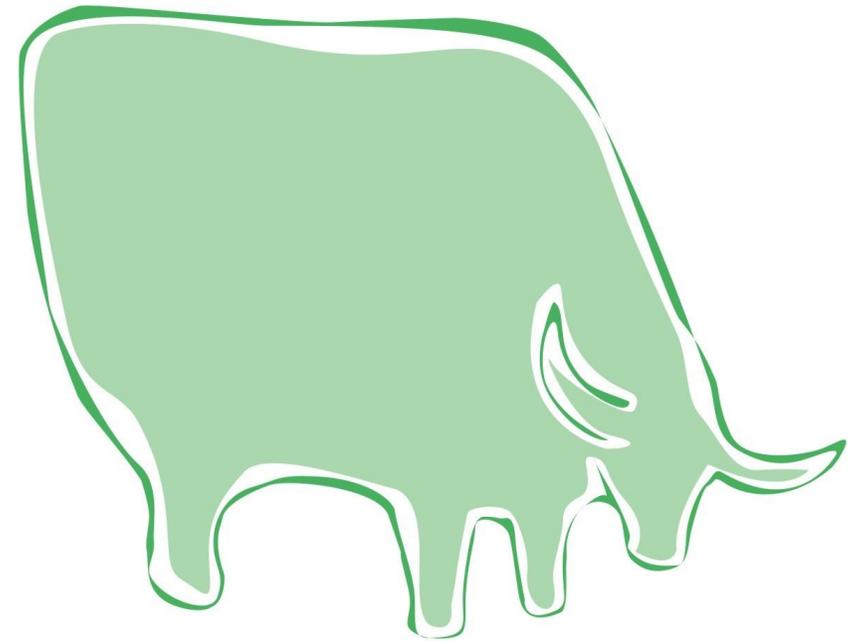
Institut National de la Recherche Agronomique



CENTRO PARA EL
DESARROLLO DE LA
INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA

Embrapa

Gado de Leite



**Escola de Veterinária
UFMG**

Objetivos

- Técnicas de colecta de muestras
- Extracción de ADN de diferentes tipos de muestra
- Análisis de paternidad por microsatélite
- Análisis de paternidad y genes de mejoramiento genético por SNPs
 - TruSeq Bovine Parentage Sequencing Panel – Illumina
- Bioinformática y bioestadística para análisis de datos



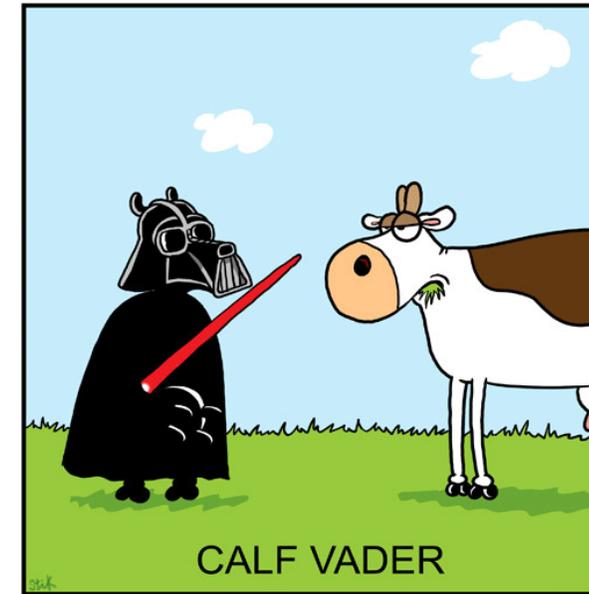
Actividades desarrolladas

- Colecta de muestras biológicas y extracción de ADN de las mismas.
- Análisis de paternidad por medio de la técnica de microsatélites.
- Uso del Secuenciador MiSeq y el kit TruSeq Bovine Parentage Sequencing Panel para análisis de paternidad y de genes de mejoramiento genético por SNPs.
- Cursos sobre bioinformática y bioestadística para análisis de datos.
- Análisis de datos y redacción de informes sobre paternidad y genes de producción.



¿Test de paternidad bovino?

- La industria de ganado bovino de registro se ha basado fundamentalmente en la comercialización de sementales y pie de cría con registro genealógico (pedigrí), lo que en cierta medida indica su valor genético.
- Es requisito indispensable para la estimación de parámetros y valores genéticos para mejoramiento genético.



RESOLUCIÓN DE LA ORZARP

Todos los usuarios de los servicios que presta la ORZARP (propietarios, cabañeros), deben tener cancelada en su totalidad, las cuentas generadas bajo su nombre, ya sean: liquidaciones por trabajos, cuentas de mantenimientos anuales en el sistema, ADN a ser enviados, etc. Para poder realizar cualquier gestión ante la ORZARP, como ser: solicitudes de trabajos para técnicos e incluso poder presentar cualquier tipo de denuncias (CDN, CDS, GV, ADT, ADTER, CDSFIV O CDSTE, ETC.)

Se ha resuelto que para mayor agilidad y practicidad para el propietario, se autoriza a los mismos para que puedan realizar la extracción y posterior presentación de muestras para análisis de ADN de aquellos nacimientos productos de Transferencias de Embriones y/o Fecundación In Vitro, para lo cual se les proveerá el sobre de identificación de animal para el depósito de las muestras. Se aclara además que el propietario puede entregar las muestras biológicas única y exclusivamente solo de aquellos nacimientos productos de "Fecundación In Vitro (CDFIV) y/o Transferencia Embrionaria (CDSTE)".

Todos estos trámites, el propietario y/o representante legal, debe gestionarlos ante el Departamento de ADN de la Oficina de Registros Zootécnicos de la ARP.

La presente resolución entrará a regir desde el 01 de noviembre del 2016.-

Art. 32°. De la inscripción de los nacimientos

La inscripción de los terneros, generalmente deberá ser solicitada por el criador, sin embargo en casos de animales nacidos durante transportes, locales de venta, o exposiciones; la solicitud de inscripción deberá ser requerida como criador por quien resulte comprador.

En los casos de ventas de animales con crías que no hayan llegado a la edad de la inspección para el control, el criador de los animales deberá obligatoriamente presentar, previo a la venta, la solicitud de control e inscripción de la cría correspondiente. Al realizar la inspección las crías podrán ser aceptadas o rechazadas. Las aceptadas llevarán los datos que correspondan al criador original pero constará la propiedad del nuevo adquirente.

La inspección para el control al pie de la madre deberá realizarse antes de los 9 meses de edad. Si por algún motivo de fuerza mayor los terneros requieren ser destetados sin contar con el control al pie de la madre, el propietario deberá solicitar por escrito a la CRZ/ACBP la autorización para realizar el destete anticipadamente. Los terneros que cuenten con una

verificación previa al pie de la madre realizada por un técnico autorizado y es presentado en un formulario proveído por la ACBP podrán ser controlados.

Los terneros que no cumplan con estas condiciones para poder ser controlados deberán contar con análisis de ADN.

Art. 26°. Servicio de monta natural (MN)

Los criadores que deseen inscribir los servicios por MN a Corral o a Campo, deberán completar los formularios oficiales de la ACBP, en el cual se identificaran las hembras con sus números de RP y ACBP, según corresponda. Además deberá comunicarse en la planilla, las fechas de entrada y salida de servicio del toro con sus números de RP y ACBP, según corresponda.

Para los casos de monta natural con toros de propiedad de terceros se deberá adjuntar, la comunicación de préstamo firmada por el propietario del reproductor, en el formulario de la ACBP establecido para el efecto. En todos los casos, el criador deberá adjuntar copia del resultado de ADN de los toros utilizados.

En los casos de que se utilice reproductores de las categorías de Registro Avanzado y Definitivo, se deberá adjuntar copia del pedigree expedido por la ORZ/ARP.

Art. 18 Registro Controlado

Se considerará Brangus de Registro Controlado a los productos de apareamiento de servicios colectivo, la inscripción y procesamiento de dichos registros estará exclusivamente a cargo de la ACBP.

La cruce entre reproductores 3/8 podrá ser categorizado como 3/8 Avanzado o Definitivo, previa realización de análisis de ADN, con resultado positivo.

Los toros reproductores utilizados en rodeos de servicio colectivo, necesariamente deberán tener el mismo quebrado o variedad; no permitiéndose toros de diferentes quebrados o variedades en un mismo rodeo.

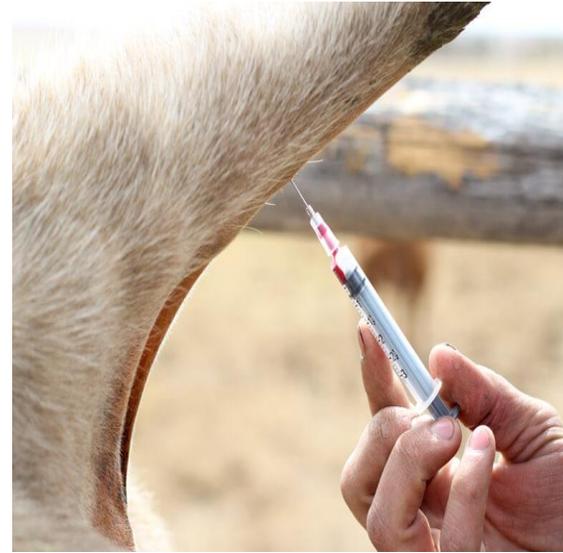
REPRODUCTOR	REPRODUCTOR	CRÍA/PRODUCTO
Controlado 1Gen	Definitivo	Controlado 2Gen.

Art. 48°. Inspecciones y supervisión.

La ACBP podrá, de oficio y en todo momento, ordenar toda clase de investigación, exámenes, identificación, tipificación de sangre o ADN, presencia de productos hormonales prohibidos a nivel nacional de cualquier animal inscripto; podrá controlar o concursar todos los registros del criador; verificar las inspecciones de su archivo y controlar la existencia del mismo, con el propósito de aclarar o dilucidar cualquier aspecto en el que la ACBP esté interesada. Los propietarios deberán promover todas las facilidades necesarias para realizar las inspecciones. Estas inspecciones podrán ser o no preavisadas, y se podrán realizar en forma parcial o total del plantel a ser supervisado. Se realizarán sin cargo para el criador.

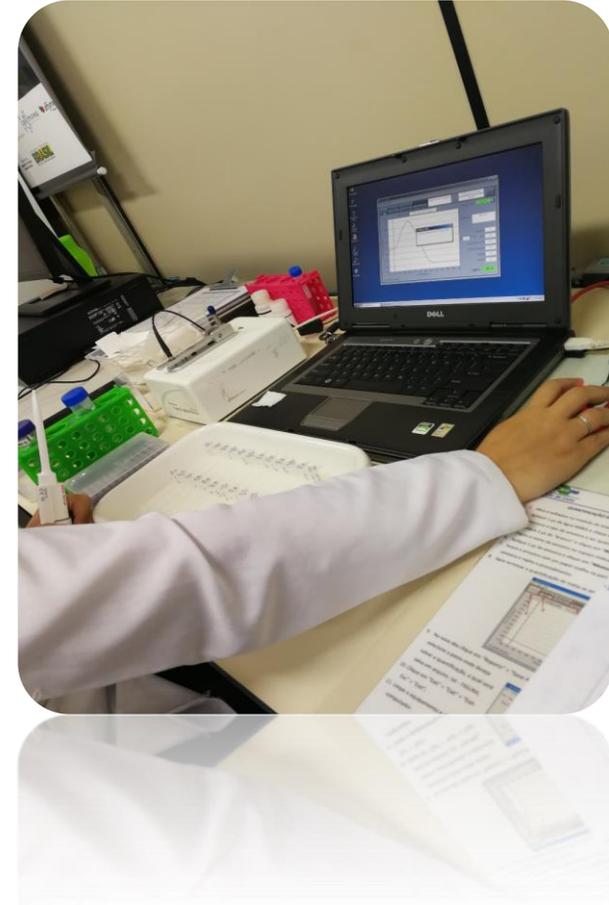
Sobre el resultado de la supervisión, la ACBP podrá tomar resoluciones de índole informativo,

Técnicas de muestreo para extracción de ADN



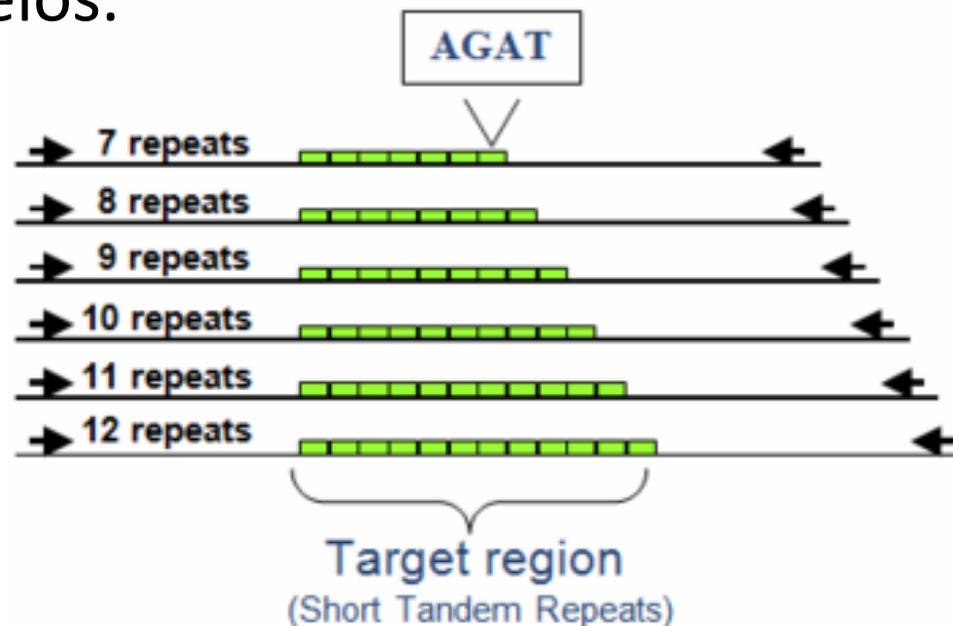
Extracción de ADN

- Rápida
 - Proteinasa K
 - ≤ 100 ug/uL ADN
- Lenta
 - Proteinasa K
 - Fenol, Cloroformo:Isoamil, Isopropanol y acetato de sódio
 - ≥ 250 ng/uL de ADN

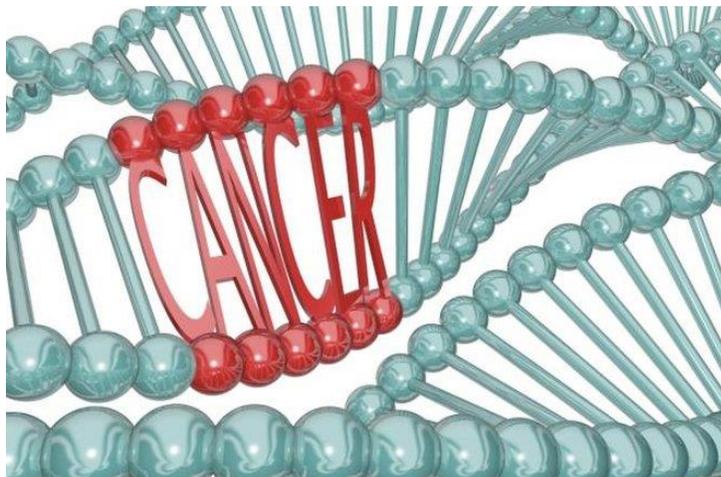
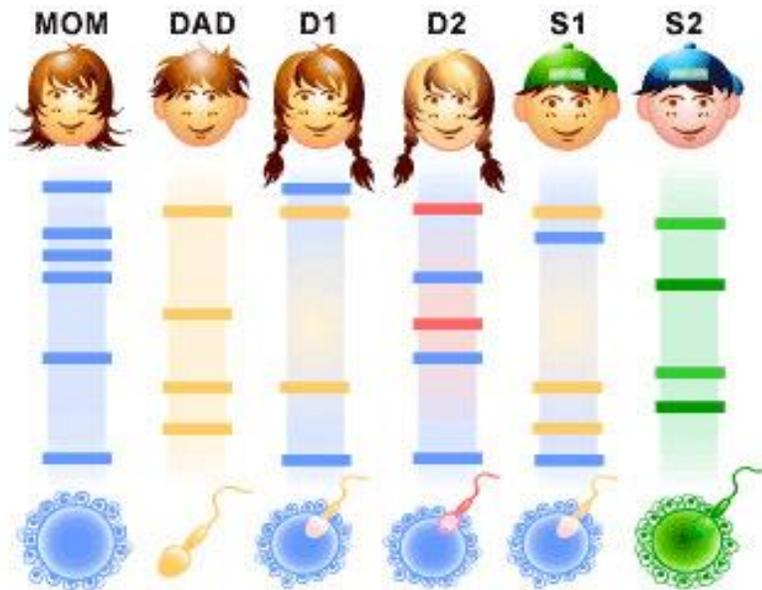


Microsatélites

- Los microsatélites (STR - short tandem repeat) son secuencias de ADN en las que un fragmento (de 2 a 6 PB) se repite de manera consecutiva.
- La variación en el número de repeticiones, y no la secuencia repetida, crea diferentes alelos.



Microsatélites - Usos



Análisis de paternidad por microsatélite

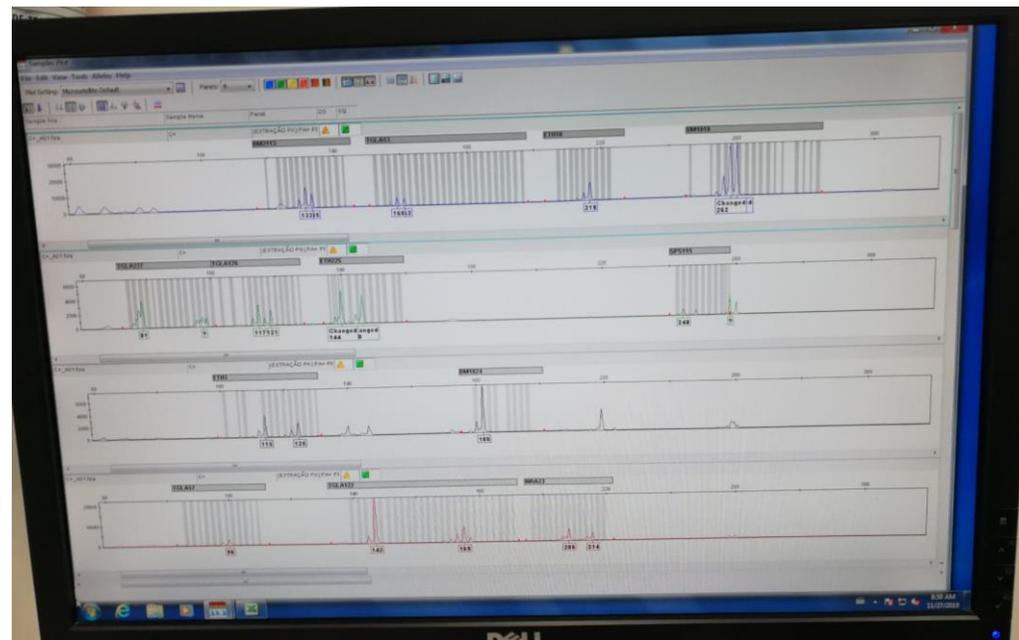
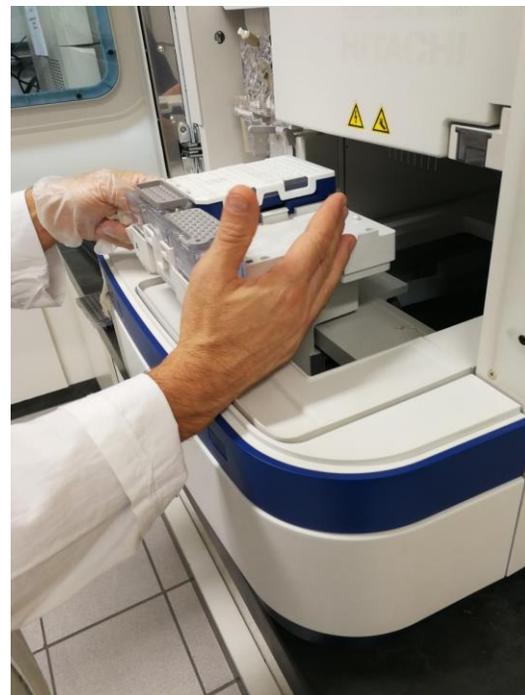
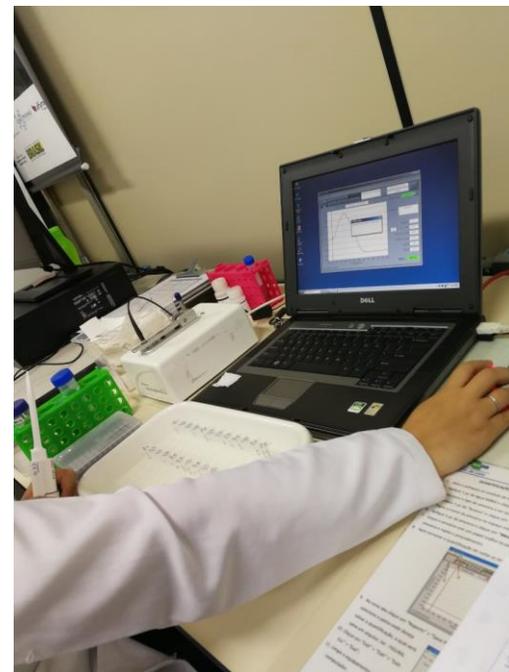
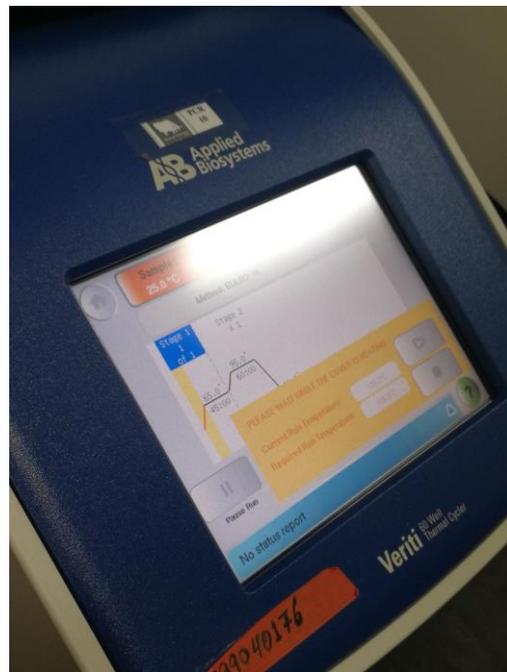
- Los marcadores:
 - Alta variabilidad (elevado polimorfismo).
 - Herencia estable (baja tasa de mutación).
 - Elevada reproductividad y precisión.
 - Ser un procedimiento fácil, rápido, económico, potencialmente automatizable.
 - La fuente de ADN no debe estar limitada únicamente a muestras sanguíneas frescas ni a grandes cantidades de ADN.
 - Presentar una segregación independiente con otros marcadores al ser combinados en la prueba.



Análisis de paternidad por microsatélite

- Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG) y la Food and Agriculture Organization (FAO) han seleccionado y estandarizado diferentes microsatélites en las distintas especies de animales domésticas:
- Bovinos, equinos, porcinos, caninos, ovinos, caprinos





Marcadores paternidad bovinos (por ISAG)

Panel ISAG

- BM1818; BM1824; BM2113; ETH10; ETH225; ETH3; INRA23; SPS115; TGLA122; TGLA126; TGLA227 e TGLA53.

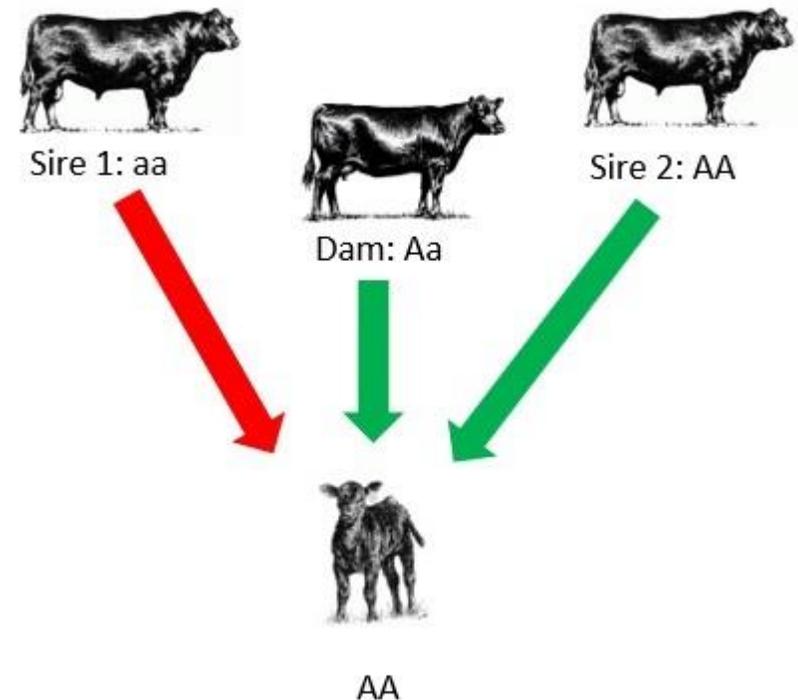
Panel extra

- BRR; RM06; RM067; CSRM60; SPS113; INRA63, TGLA57, BM1706



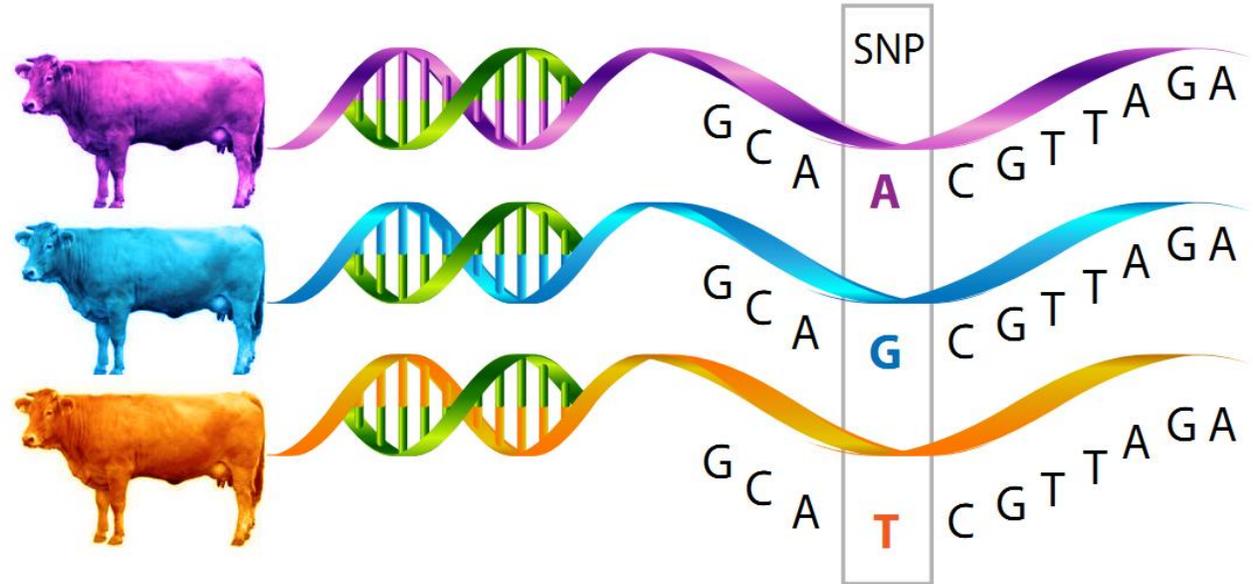
¿Mejoramiento genético?

- Ciencia para incrementar la productividad, la resistencia al medio ambiente y a las enfermedades presentes en el mismo, generando una mejor adaptación de las especies y calidad de sus productos, por medio de modificaciones del genotipo.



SNPs

- Polimorfismo de un solo nucleótido o SNP (Single Nucleotide Polymorphism)



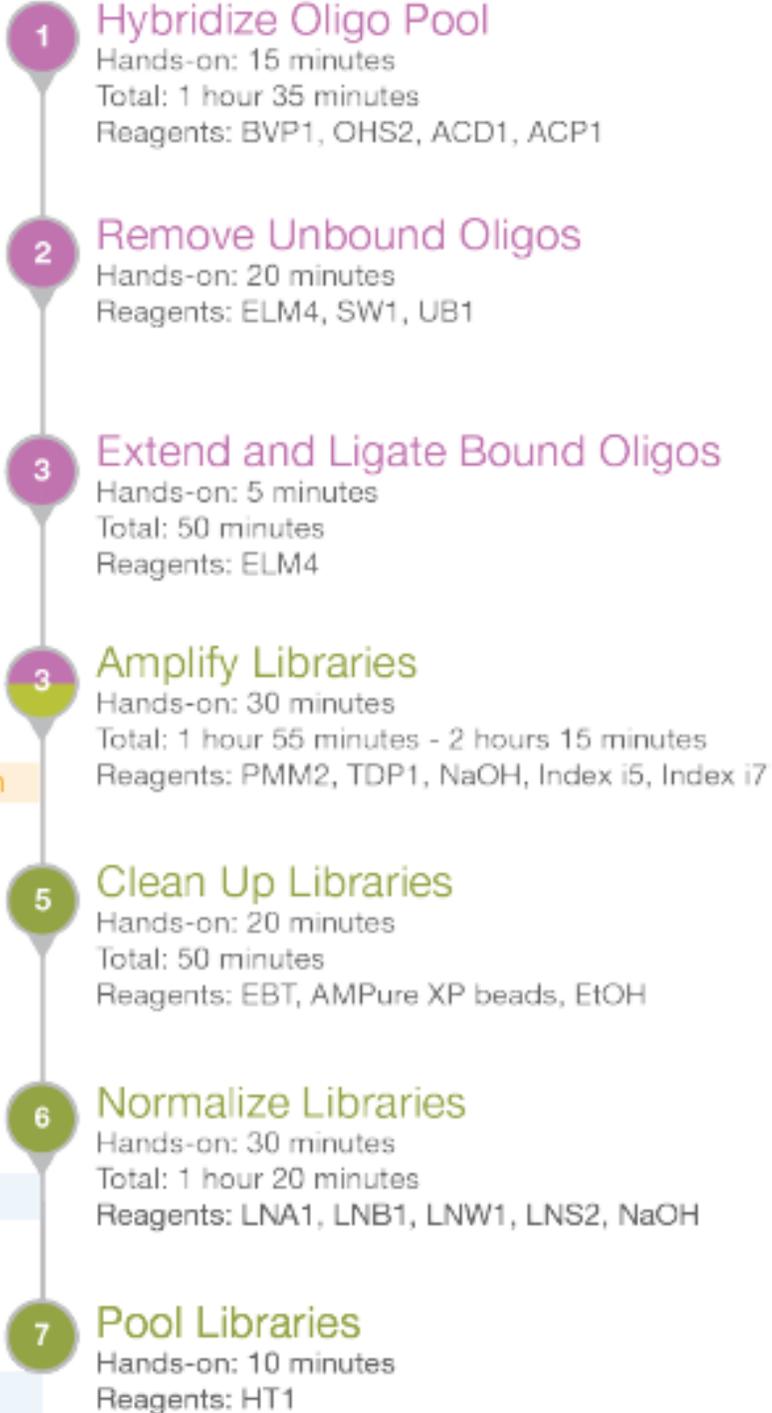
- Variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base de una secuencia del genoma.
- Una de estas variaciones debe darse al menos en 1% de la población para ser considerada como un SNP.
- Los SNPs indican una localización cromosómica que es probable que esté estrechamente asociada con un fenotipo dado.



TruSeq Bovine Parentage Sequencing Panel

TruSeq Bovine Parentage Sequencing Panel Content	
Description	No. of SNPs
SNPs Used for Parentage Assessment	
ISAG Core SNP Targets	100
ISAG Additional SNP Targets	100
Variant Targets Associated with Genetic Disorders/Diseases	
Prenatal/Perinatal Lethal Conditions (HH1, HH3, HH4, MH1, etc)	12
Postnatal/Adult Lethal Conditions (Citrullinemia, Congenital Muscular Dystonia, Cardiomyopathy, Myoclonus, etc)	17
Nonlethal, Adverse Conditions (Marfan Syndrome, Mulefoot, Protoporphyrin, Hemophilia A, etc)	19
Variant Targets Associated with Economically Valuable Traits	
Male Fertility	1
Growth and Appearance	4
Meat Quality	4
Milk Quality	6
Total Number of SNP/Variant Targets	263



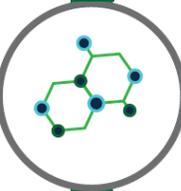
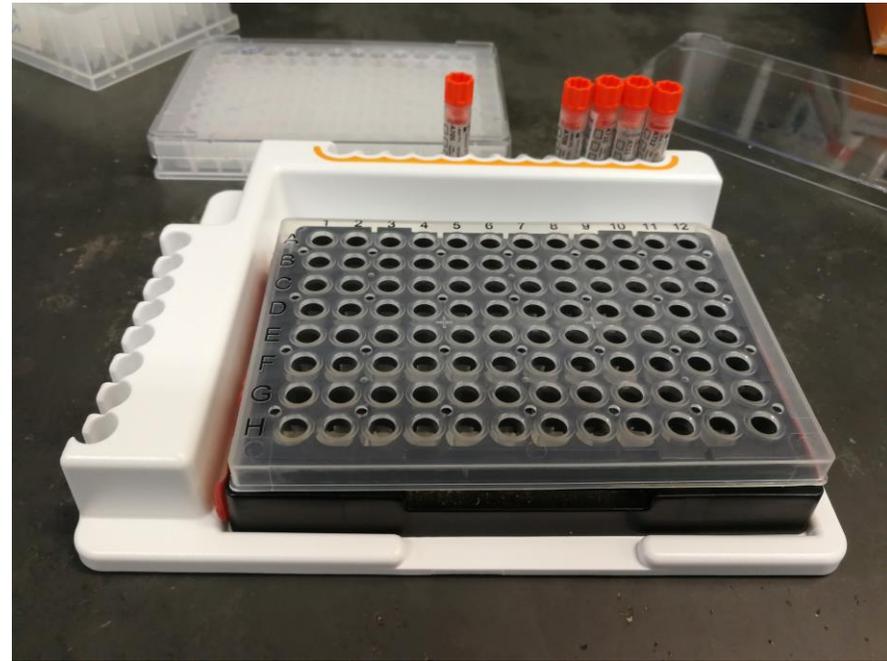
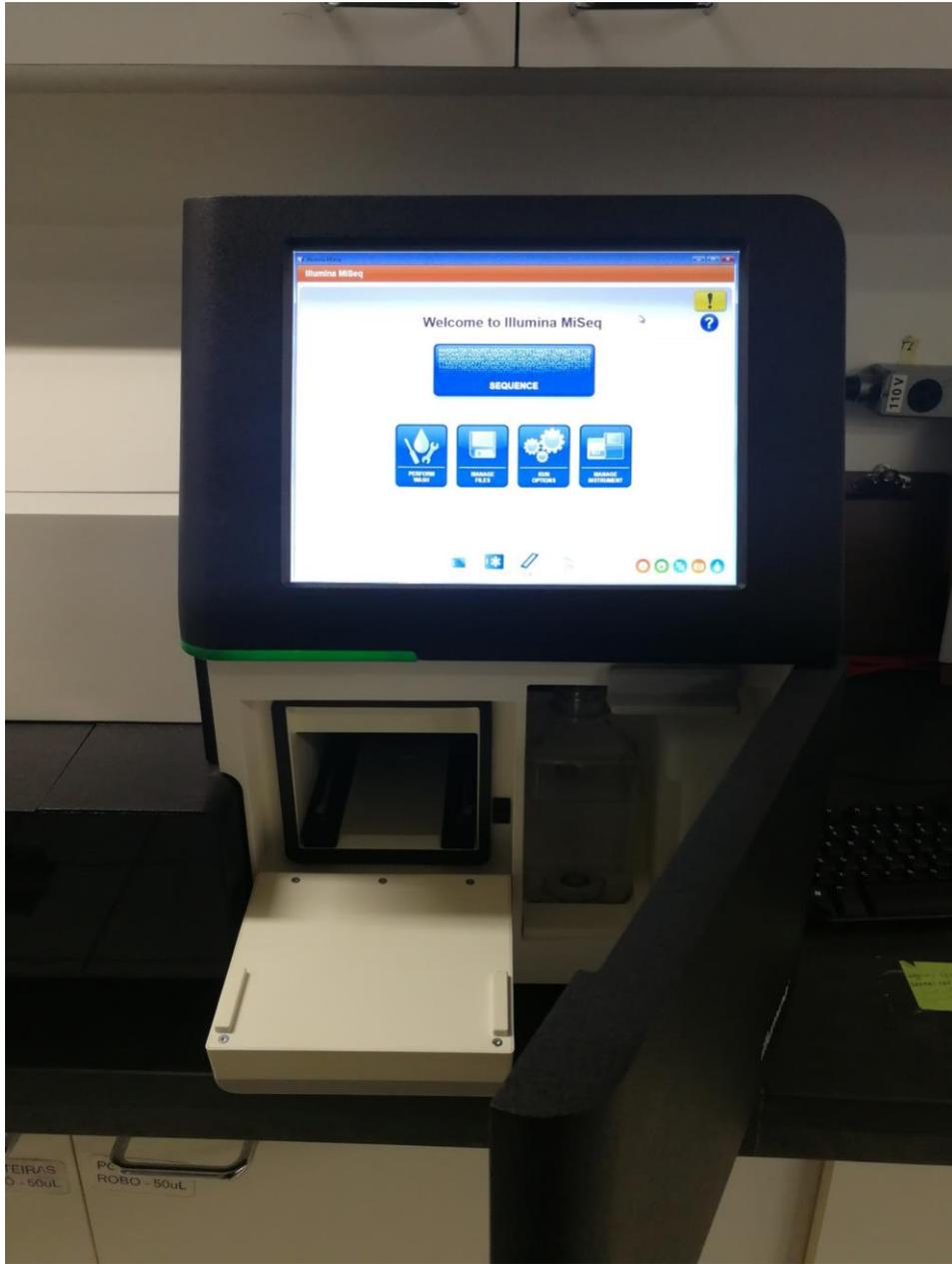


Optional Overnight Incubation

Safe Stopping Point

Safe Stopping Point





Análisis de datos

- Datos en formato VCF
- Programa Golden Helix – convertir datos en formato de alelos A y B:
 - AA
 - AB
 - BB



9ª Prova de Pré-seleção para o
Teste de Progênie ABCGIL/EMBRAPA



Comparação dos valores genéticos para produção de leite estimados
entre animais de um mesmo rebanho

Proprietário: Fulano de Tal

Os resultados a seguir referem-se à comparação entre animais genotipados de um mesmo rebanho, por meio de seus valores genéticos para produção de leite, que foram estimados a partir de informações genealógicas, fenotípicas e genômicas. Os resultados não se prestam a qualquer tipo de comparação entre animais de diferentes rebanhos e não garantem que os animais melhor classificados, no gráfico abaixo, terão um desempenho superior caso participem do pré-teste e do teste de progênie do Gir Leiteiro. O objetivo da entrega desses resultados é que a informação auxilie os criadores a escolherem, dentre os animais disponíveis em seu rebanho, aqueles com melhor potencial genético para produção de leite, melhorando o processo de tomada de decisão quanto a qual(is) animal(is) poderá(ão) ser inscrito(s) no Teste de Progênie conduzido pela ABCGIL e pela Embrapa. Para que se tenha uma base de comparação, a linha tracejada acima do eixo horizontal corresponde ao valor de um desvio-padrão acima da média do grupo de 66 animais submetidos a essa etapa da pré-seleção, enquanto a linha tracejada abaixo do eixo horizontal corresponde ao valor de um desvio-padrão abaixo da média desse mesmo grupo. É extremamente importante ressaltar que o resultado não é apropriado para ser usado como peça de promoção para a comercialização do próprio animal ou mesmo do seu sêmen.

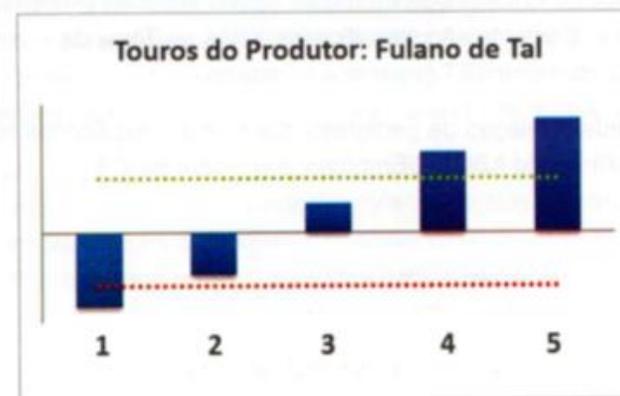


Figura 1. Exemplo do resultado final entregue a cada um dos 22 produtores participantes da 9ª Prova de Pré-seleção para o Teste de Progênie ABCGIL/Embrapa.



16º Grupo - Touros com Previsão de Resultados em 2021

Nome do Touro	RGD	CR ¹	Pai	Mãe	Marcadores Moleculares ¹								Sêmen Disponível	
					K-CN ²	B-CN ³	B-LGB ⁴	DGAT 1 ⁵	BLAD ⁶	DUMPS ⁷	CVM ⁸	Central IA		
Apolo FIV Extreme RC do Moinho	4986M	3/4	MR Andis Altaextreme	Legítima Ravena das Três Passagens	NG	NG	NG	NG	NG	NG	TV	Indisponível		
Elino FIV Shottle da Tropical	3240G	3/4	Picston Shottle-ET	Espanhola Fiasco MAMJ	AA	A1A2	AB	AK	TL	TD	TV	Alta Genetics		
Horizonte FIV Xa	8803J	3/4	Hornland Jayz-ET	Balada X.A	AA	A2A2	BB	AK	TL	TD	TV	CRV Lagoa		
ICH Lupi Aftershock	4228K	3/4	MR Atlees SHT Aftershock	ICH Canela Teatro	AA	A1A1	AA	AK	TL	TD	TV	Indisponível		
JPZ Olímpio Argeu Linda FIV	5381W	3/4	Argeu Leduc Santa Luccia TE	Linda do SPA	NG	NG	NG	NG	TL	TD	NG	Alta Genetics		
Oásis da Divisa Luxo Aftershock	2837J	3/4	MR Atlees SHT Aftershock	Botique JM Monte Alverne	AA	A1A2	AB	AK	TL	TD	TV	Indisponível		
Rústico FIV Santa Luzia	1566S	3/4	Gillette Jordan	Aduana DF	AA	A1A2	BB	AK	TL	TD	TV	ABS Pecplan		
Arpoador Lamina Aftershock FIV NT	5753J	5/8	MS Atlees SHT Aftershock	Lama Preta Lamina Pioneiro	AA	A1A2	AB	AK	TL	TD	TV	Alta Genetics		
Brooklin Rancho Tunin	5385W	5/8	Gillette Windbrook	Olinda Terra Vermelha	AA	A2A2	AB	KK	TL	TD	TV	Semex		
Caligula Aftershock FIV da Xapetuba	5654R	5/8	MR Atlees SHT Aftershock	Harmonia Terra Vermelha	AA	A1A2	AA	KK	TL	TD	TV	Alta Genetics		
Cantor Wildman IA da Xapetuba	6831P	5/8	Ladys-Manor Wildman-ET	Iguana Palma	AA	A2A2	BB	AK	TL	TD	TV	CRV Lagoa		
Deano FIV Goldwyn da Tropical	7640S	5/8	Braedale Goldwyn	Pitanga Sansão OG	AB	A1A2	AB	KK	TL	TD	TV	Accelerated Genetics		
Destino Jayven FIV F. Congonhas	7900Q	5/8	Stouder Jayven-ET	Neves da C.A Boa Vista	NG	A2A2	AB	AK	TL	TD	TV	ABS Pecplan		
Detetive Jayven FIV F. Congonhas	7901Q	5/8	Stouder Jayven-ET	Bibiana FIV Sansão da Tropical	AB	A2A2	AA	AK	TL	TD	TV	Alta Genetics		
Eldorado FIV da Prata JAC	0583Q	5/8	Gen-Mark Stmatic Sanchez	Harmonia Terra Vermelha	AA	A2A2	BB	AK	TL	TD	TV	CRV Lagoa		
Logan FIV Rio do Leite	5300U	5/8	Picston Shottle-ET	Laranja Santa Luzia	AA	A2A2	BB	AK	TL	TD	TV	CRV Lagoa		
Quincas da Terra Vermelha	2253J	5/8	Mountfield Altaexacter	Lalila TE Terra Vermelha	AB	A1A2	AB	AK	TL	TD	TV	Alta Genetics		
Raroa Reitor Sansão Gerard	8700K	5/8	Schillview Oman Gerard	Franca TE Sansao RPM Santo Antonio	AB	A2A2	AB	AK	TL	TD	TV	ABS pecplan		
RBC Florentino Shottle	5220U	5/8	Picston Shottle-ET	RBC Colcheia	AA	A2A2	AA	AK	TL	TD	TV	Indisponível		
Romano Jocko FIV WTF da Estiva	1763	5/8	Jocko Besne	Zumira 982 WTF Da Estiva	AA	A2A2	BB	AK	TL	TD	TV	Select Sires		
Valente FIV da Prata JAC	0584Q	5/8	Picston Shottle-ET	Harmonia Terra Vermelha	AA	A1A2	AB	AK	TL	TD	TV	Alta Genetics		
Batuque Diamante Java	5127N	PS	Diamante Valinhos	Lama Preta Kamuela Lheros	AA	A1A2	BB	AK	TL	TD	TV	Semex		
Destaque FIV Fausto Morada Corinthiana	5383W	PS	Fausto Polo Itaúna	Jalita Tutti Morada Corinthiana	AB	A2A2	BB	AK	TL	TD	TV	Alta Genetics		
Poderoso Fausto OG	1000P	PS	Fausto Polo Itaúna	Esparta Windstar OG	AA	A1A1	BB	AK	TL	TD	TV	CRV Lagoa		
Surfista FIV das Arábias II	6637S	PS	Turbante Touch das Arábias	Bailarina das Arábias	AA	A2A2	AA	AK	TL	TD	TV	CRV Lagoa		
Turbo das Arábias	0079	PS	Turbante Touch das Arábias	Preta Jewel das Arábias	AA	A2A2	AB	AK	TL	TD	TV	Accelerated Genetics		

¹CR - Composição Racial, ²NG - Não Genotipado, ³Kappa-Caseína (Alelo A - Menor rendimento para produção de queijo, Alelo B - Maior rendimento para produção de queijo), ⁴Beta-Caseína (A1 - Associado a problemas nutricionais e de saúde em humanos, A2 - maior produção de leite e proteína), ⁵Beta-Lactoglobulina (Alelo A - Aumento na produção de leite, Alelo B - Maior teor de proteína e gordura no leite), ⁶DGAT1 (Alelo A - Aumento na produção de leite e de proteína, Alelo K - Diminuição na produção de proteína e aumento na produção de gordura no leite), ⁷BLAD (BL - Animal heterozigoto - portador do alelo para BLAD, TL - Animal homozigoto - não portador do alelo para BLAD), ⁸DUMPS (DP - Animal heterozigoto - portador do alelo para DUMPS, TD - Animal homozigoto - não portador do alelo para DUMPS), ⁹CVM (CV - Animal heterozigoto - portador do alelo para CVM, TV - Animal homozigoto - não portador do alelo para CVM).

Conclusión

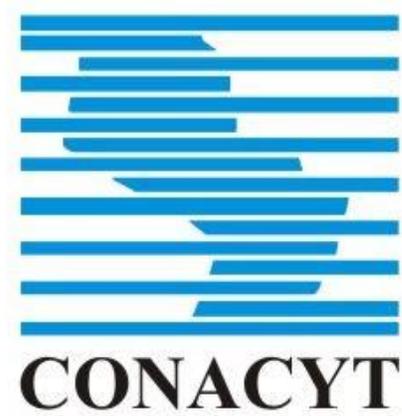
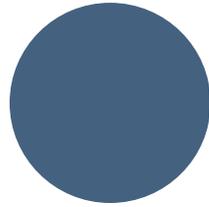
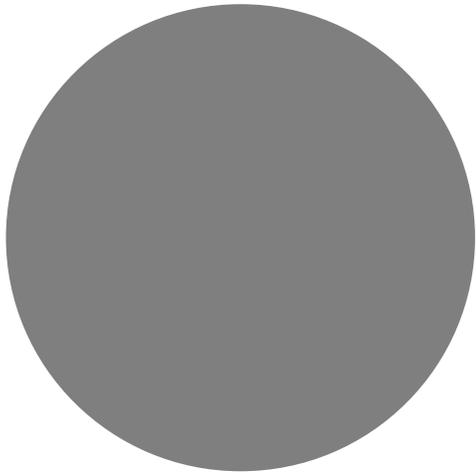
- Durante mis prácticas en el Embrapa Gado de Leite adquirí conocimientos y capacitaciones en todas las áreas mencionadas.
- Aprender nuevas y valiosas tecnologías que son de gran importancia socioeconómica para el país.
- El programa de Vinculación es una excelente plataforma para la formación continua de investigadores y la implementación de nuevas tecnologías a nivel nacional.



Perspectivas

- Implementar estas nuevas biotecnologías a nivel nacional para hacer una mejora en la industria ganadera y en la investigación sobre mejoramiento genético del ganado local.



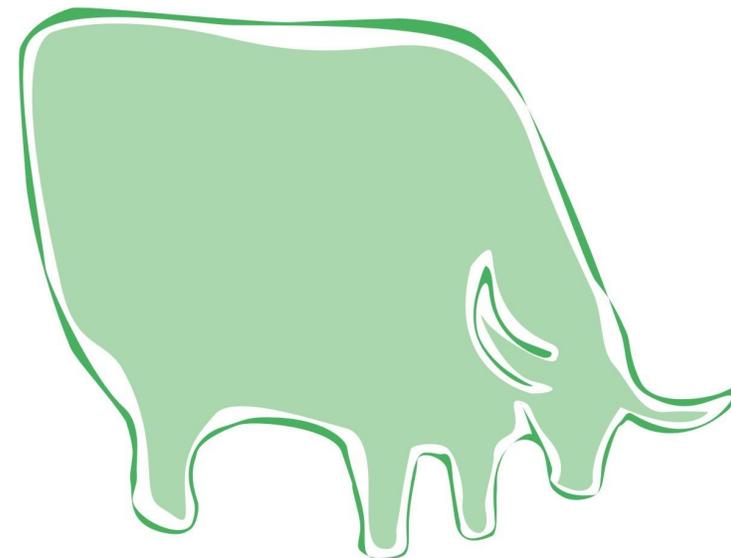


Experiencias del programa de
Vinculación de científicos y
tecnólogos



Embrapa

Gado de Leite



Escola de Veterinária
UFMG





**Muchas
gracias**

Dra. Johanna Leiva
johileiva@gmail.com