Organización y Gestión del Banco de ADN Genómico Animal

Peraza, P.[1*]; Navajas, E.A.[1]; Montossi, F.[2]; Branda Sica, A.[1]; Ravagnolo, O.[2]; Ciappesoni, C.G[2]; Dalla Rizza, M.[1]

[1] Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Unidad de Biotecnología, Uruguay
[2] Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Programa Nacional de Carne y Lana, Uruguay
*pperaza@inia.org.uy

Introducción

El INIA ha llevado adelante iniciativas innovadoras junto al sector productivo y sus gremiales tendientes a brindar nuevas herramientas para la mejora genética animal. El Banco de ADN Genómico Animal es una iniciativa establecida en conjunto con la Asociación Rural del Uruguay (ARU) con el objetivo de conservar el material genético de ovinos y bovinos de nuestro país para su utilización en actuales y futuros proyectos de investigación y selección genómica. En forma complementaria, el INIA junto al Instituto Nacional de Mejoramiento Lechero (INML) y la Universidad de la República (UDELAR) a través de la Facultad de Veterinaria (FV) establecieron un convenio para la concreción de un Banco de ADN lechero, contribuyendo a brindar un mayor alcance a la conservación de material genético valioso existente en el país. A lo largo del tiempo, el INIA ha implementado trabajos de investigación y desarrollo metodológicos para el mejoramiento genético junto a la ARU, las sociedades de criadores de las diferentes razas involucradas y el INML. Por lo que este gran esfuerzo ha logrado importantes avances en los sistemas de evaluación en el mejoramiento genético animal, sustentados en parámetros cuantitativos, que modernizaron la genética animal en el país. Es importante destacar en todas estas iniciativas el rol fundamental de instituciones como el Secretariado Uruguayo de la Lana (SUL) y la UDELAR.

Material genético en el Banco

Al día de hoy el Banco de ADN, ubicado en la Estación Experimental Las Brujas, cuenta con más de 10 mil muestras. Un punto importante es la definición de qué materiales deben ser conservados. La importancia y valor del material genético conservado dentro del Banco de ADN Genómico Animal está dado en gran medida por la información productiva asociada a cada muestra. La riqueza de la información a obtener realizando la asociación de las características de sus registros y la información genética es de un altísimo valor tanto para la generación de conocimiento sobre las características genéticas determinantes como para la aplicación de selección. Esto influye entonces, en la jerarquía o el valor que se le otorga a la conservación de las muestras cuando es posible contar con información caracterizada para de cada una de ellas.

En el Cuadro 1 se presentan algunos ejemplos de las muestras que hoy se conservan en el Banco de ADN las cuales se pueden clasificar en dos grandes grupos. Por un lado, muestras de poblaciones clave a la variación genética de diferentes razas y que están asociadas a la mejora genética de las mismas como son los núcleos de selección de la raza Merino o las centrales de conexiones de Corriedale y Texel. Dentro de este mismo enfoque y pensando en los desarrollos futuros en selección genómica, la conservación de las muestras de los animales más relevantes por su influencia en la genética de las razas es también material prioritario para el Banco. En ese sentido, ya se cuenta con muestras de la raza Hereford para estudios de asociación genómica. En forma complementaria a lo anterior, el Banco de ADN es también el reservorio de muestras provenientes de experimentos que provean información valiosa por la importancia de características consideradas. Las poblaciones

experimentales reúnen datos de atributos no solo relevantes sino de difícil y/o costosa medición cuyo valor puede ser estratégico para estudios futuros.

En términos generales, las muestras provienen tanto de proyectos coordinados por INIA como por otras instituciones, buscando siempre sumar esfuerzos que incluso permitan potencializar el uso de las mismas bases de datos con más de un objetivo. Por ejemplo, se conservan muestras de ADN de la central de conexión y prueba de progenie de la raza Texel que son parte de la evaluación genética realizada por el INIA y también forman parte de un proyecto INNOVAGRO de validación de marcadores para calidad de canal y carne liderado por la UDELAR.

Cuadro 1. Ejemplos de tipos de poblaciones consideradas en el Banco de ADN Genómico Animal tanto ovinas como bovinas. Se indica el número de muestras, proyecto a las que corresponden y las instituciones participantes del mismo.

Raza	Número muestras	Tipo de Población	Proyecto e Instituciones involucradas
Merino	~ 2100	Cabañas	Generación de una plataforma biológico-tecnológica de referencia, para estudios de selección genómica aplicada al mejoramiento en ovinos en Uruguay: énfasis en resistencia a parásitos **INIA, SUL, UDELAR, Universidad de Davis, Sociedades de Criadores, ARU**
Corriedale	~ 700	Experimental	Líneas de selección divergente por resistencia a parásitos gastrointestinales **SUL, INIA**
Hereford	~ 400	Cabañas	Estudios de asociación genómica para características de la evaluación genética **INIA, SCHU, Iowa University**
Holando	~ 1340	Tambos comerciales (experimental)	Uso de polimorfismos genéticos para la mejora en producción y fertilidad de la vaca lechera en condiciones pastoriles (FPTA) **INML, UDELAR-FV, INIA**

Es importante destacar que el Banco, cuenta con Comités de Coordinación o Administración constituidos por representantes de INIA y de ARU (convenio Banco de ADN) y por representantes del INIA, el INML y la UDELAR (convenio Banco de ADN lechero). Estos comités tienen como funciones definir los protocolos y los procedimientos de manejo y acceso a los datos en relación al material conservado. Estos procedimientos permiten asegurar a todas las instituciones y organizaciones participantes de esta iniciativa, no solo el ingreso de muestras de valor al Banco, sino también que el retiro de material genético ya almacenado será utilizado apropiadamente. La respuesta a las solicitudes de material que custodie el Banco, queda sujeta a la decisión que tomen los comités.

Gestión y conservación de las muestras

El Banco es un repositorio de muestras de ADN obtenidas de células nucleadas mantenidas en condiciones de no permitir su degradación para una posterior utilización, con las garantías de que éste se encuentre en excelentes condiciones. El Banco también incluye un laboratorio de procesamiento de muestras para la extracción del ADN, con potencial de conservar otros materiales biológicos como pueden ser órganos y semen también muy importantes para la aplicación tanto de técnicas de secuenciación como de genotipado para la I+D+i en genómica y selección genómica. La gestión del mismo es responsable tanto del ingreso y conservación del material genético, como de su administración y trazabilidad desde el momento de su llegada al laboratorio y durante su conservación.

La consolidación del Banco de ADN Genómico Animal es un elemento fundamental en la diferenciación, no solo del INIA sino del país, en la proyección hacia la Mejora Genética Animal y en la Investigación Genómica.

Agradecimientos
Se agradece el trabajo permanente en el Banco a Andrea Vergara y Carlos Monzalvo, y las valiosas colaboraciones de Virginia Goldberg, Nicolás Grasso y Wanda Iriarte.

Determinando el parentesco a través del uso de SNP

Aguilar, I[1*]; Navajas, E.A.[2]; Ravagnolo, O.[3]; Peraza, P.[2]; Montossi, F.[3]; Dalla Rizza, M.[2]

[1] Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Programa Nacional de Leche, Uruguay. [2] Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Unidad de Biotecnología, Uruguay. [3] Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Programa Nacional de Carne y Lana, Uruguay
[*]iaguilar@inia.org.uy

Introducción

La determinación o confirmación de las relaciones de parentesco entre animales es importante desde el punto de vista del mejoramiento genético porque los errores en la genealogía tienen un efecto negativo en la tasa de progreso genético (Van Vleck, 1970; Israel and Weller, 2000), y además por permitir la asignación de paternidades en sistemas de apareamiento con múltiples toros (Van Eenennaam et al., 2007). Ya en la década de 1990 se diseñaron paneles de microsatélites como herramientas moleculares para la determinación de parentesco, siendo el método oficial avalado por la Asociación Internacional para la Genética Animal (ISAG, por su sigla en inglés). Más recientemente, la identificación de numerosos SNP distribuidos en todo el genoma y el salto tecnológico dado por el genotipado masivo de SNP (del inglés, *Single Nucleotide Polymorphism*), con tiempos y costos decrecientes, han hecho posible el uso de estos marcadores para asignar o verificar parentesco.

Marcadores del tipo SNP han sido seleccionados para la identificación y asignación de parentesco en bovinos (Heaton et al., 2002), y en la actualidad 120 SNP se encuentran incluidos en paneles comerciales de alta densidad (Matukumalli et al., 2009), como por ejemplo en el chip BovineSNP50 (Illumina, San Diego, CA). A nivel comercial están actualmente disponibles pruebas de ADN para paternidad basadas en un subconjunto de 96 SNP (ej, SeekSire™, GeneSeek, Lincoln, NE). Los diferentes paneles de marcadores pueden ser evaluados mediante su probabilidad de exclusión, que es función de la frecuencia alélica de los marcadores que los integran (Jamieson and Taylor, 1997). Hasta la fecha, estas herramientas para la determinación de parentesco aun no han sido analizadas con datos de poblaciones nacionales. En Uruguay, la raza Hereford cuenta con información genómica generada con el BovineSNP50 con vista a la implementación de la selección genómica en el marco de la evaluación genética panamericana junto a Argentina, Canadá y Estados Unidos. El objetivo del presente trabajo es cuantificar las frecuencias alélicas de los SNP y la efectividad de los mismos para la determinación del parentesco en base a información de la raza Hereford.

Materiales y métodos

Se consideraron dos bases de datos. La primera de ella corresponde a animales Hereford provenientes de un rodeo comercial nacidos en 2011, en el marco de un proyecto de investigación llevado por la Sociedad de Criadores Hereford y el INIA (**BD1**). Dichos animales fueron generados en base al apareamiento de ocho toros Hereford que integran la evaluación genética. Para la confirmación de parentesco muestras de ADN de 138 terneros, 127 vacas y los 8 toros fueron genotipados por la empresa GeneSeek (Lincoln, NE) utilizando el producto SeekSire™ (**SS**). En primer lugar se verificó el genotipo del par madre-progenie, para luego verificar y asignar el padre. Se obtuvo el genotipo de cada individuo para los 96 marcadores que fueron utilizados para los análisis. La segunda base de datos (**BD2**) se obtuvo de 395 machos Hereford genotipados con el panel BovineSNP50 (**50K**) (Illumina, San Diego, CA), de los cuales se extrajo la información de los 120 SNP identificados para la determinación de parentesco. Los ocho toros de la primera base de datos también fueron genotipados con el panel de 50k SNP. Para poder comparar los resultados de ambos paneles, se extrajeron las genotipos utilizando el "forward strand" del reporte proveniente del software GenomeStudio de Illumina.