

SELECCIÓN GENÓMICA EN EL GANADO BOVINO



HEREDIA, AGOSTO 2013



Ph.D Bernardo Vargas Leitón,
Escuela de Medicina Veterinaria,
Universidad Nacional



AGENDA

❖ Preámbulo

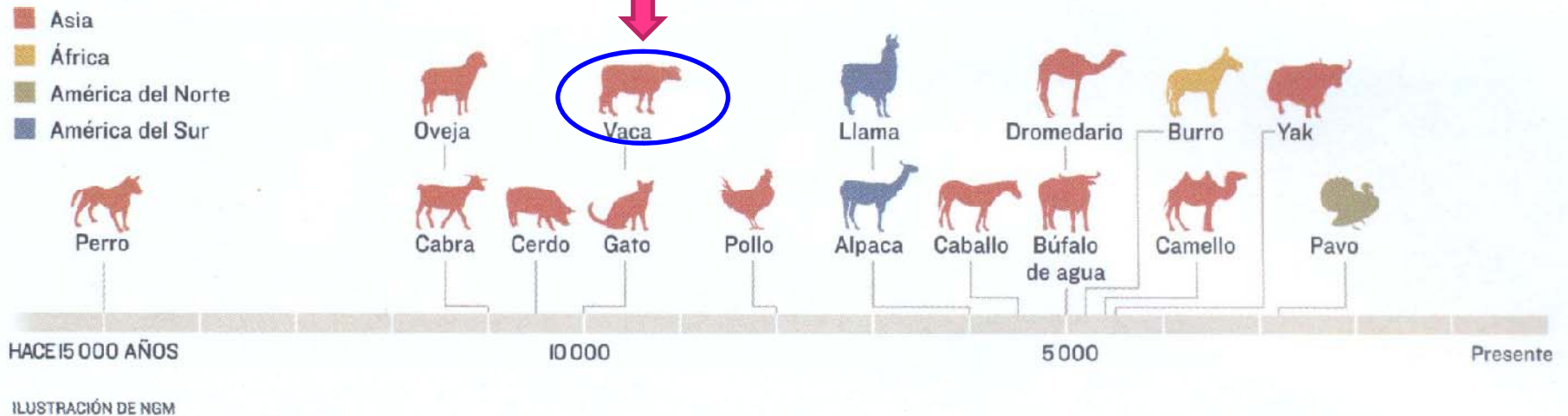
- Historia del Mejoramiento Genético
- ADN /Genes/Cromosomas
- Selección “Tradicional”
- Análisis de ADN
(Selección Asistida por Marcadores)

❖ Selección Genómica

- Bases
- Desarrollo
- Actualidad
- Perspectivas



INICIO DE MEJORAMIENTO GENETICO /DOMESTICACION



- ❖ Hace aproximadamente 10.000 años la ganadería bovina inició su desarrollo a partir de la domesticación del ganado salvaje *Bos primigenius*
- ❖ Esta domesticación fue el resultado de la combinación de **múltiples cambios genéticos y eventos ambientales** ocurridos a través de múltiples generaciones

LINEA DEL TIEMPO/ EVENTOS IMPORTANTES...

10000 AC

2000 AC

1860-1870

1870-1900

1930-1940

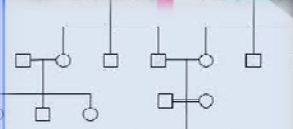
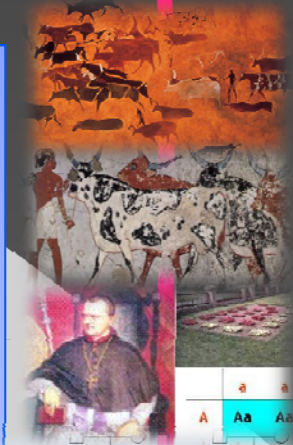
1948

1960-1980

1990-2000

2009

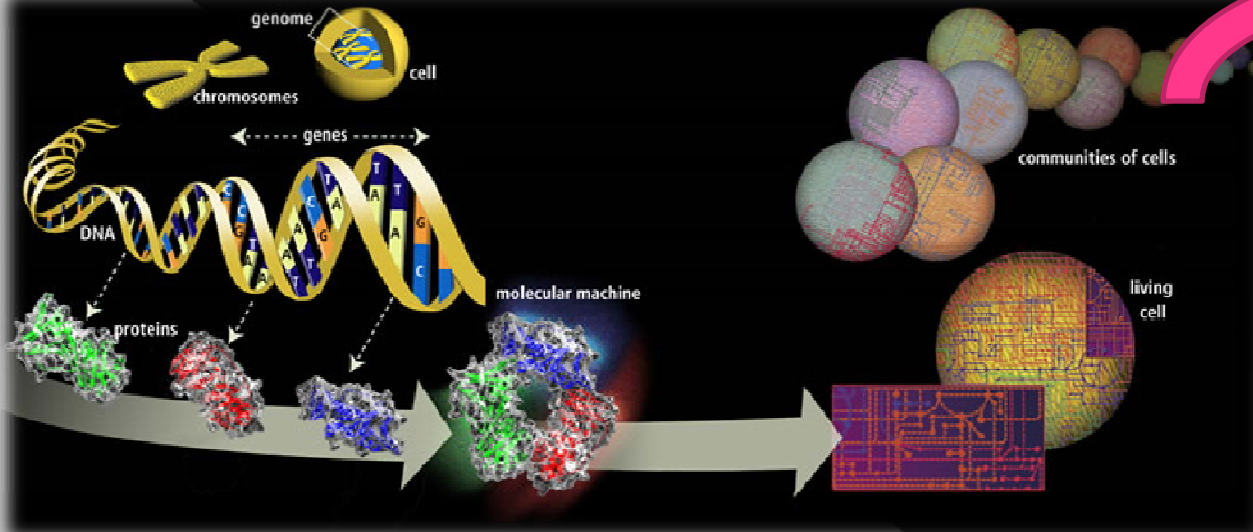
2010



- Domesticación del ganado
- Formación y Especialización de razas
- Selección empírica del ganado
- Nace la Genética Clásica (Leyes de Mendel)
- Primeras Asociaciones de Raza
- Inicio de los Registros Genealógicos
- Congelación Semen/Ins. Artificial
- Pruebas de progenie
- Modelo de ADN (Watson y Crick)
- Transferencia de Embriones/ FIV
- Modelo Animal para Cálculo de Valor Genético
- Selección Asistida por Marcadores Genéticos
- Secuenciación de Genoma Bovino
- Selección Genómica

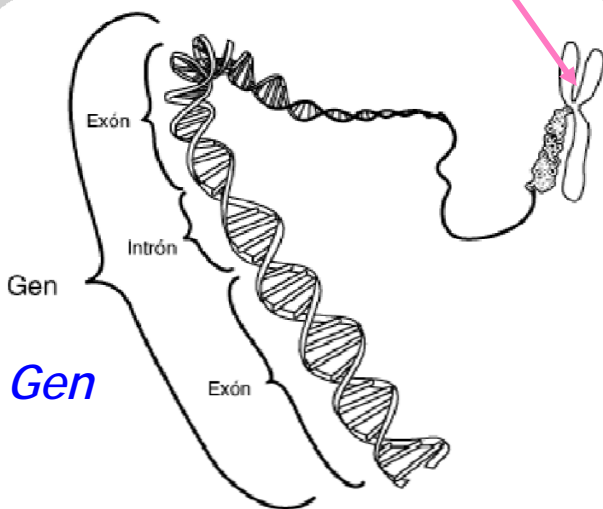


QUE SON LOS GENES?



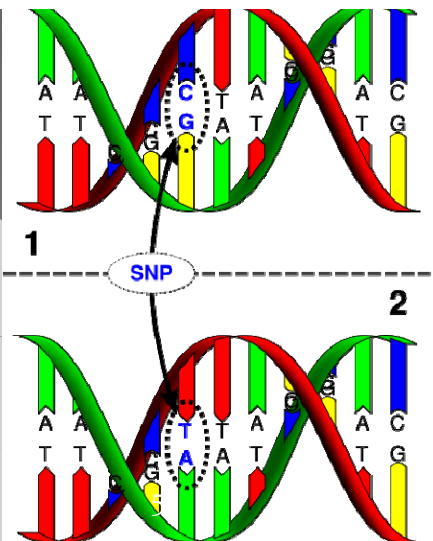
Nucleótidos (SNP)

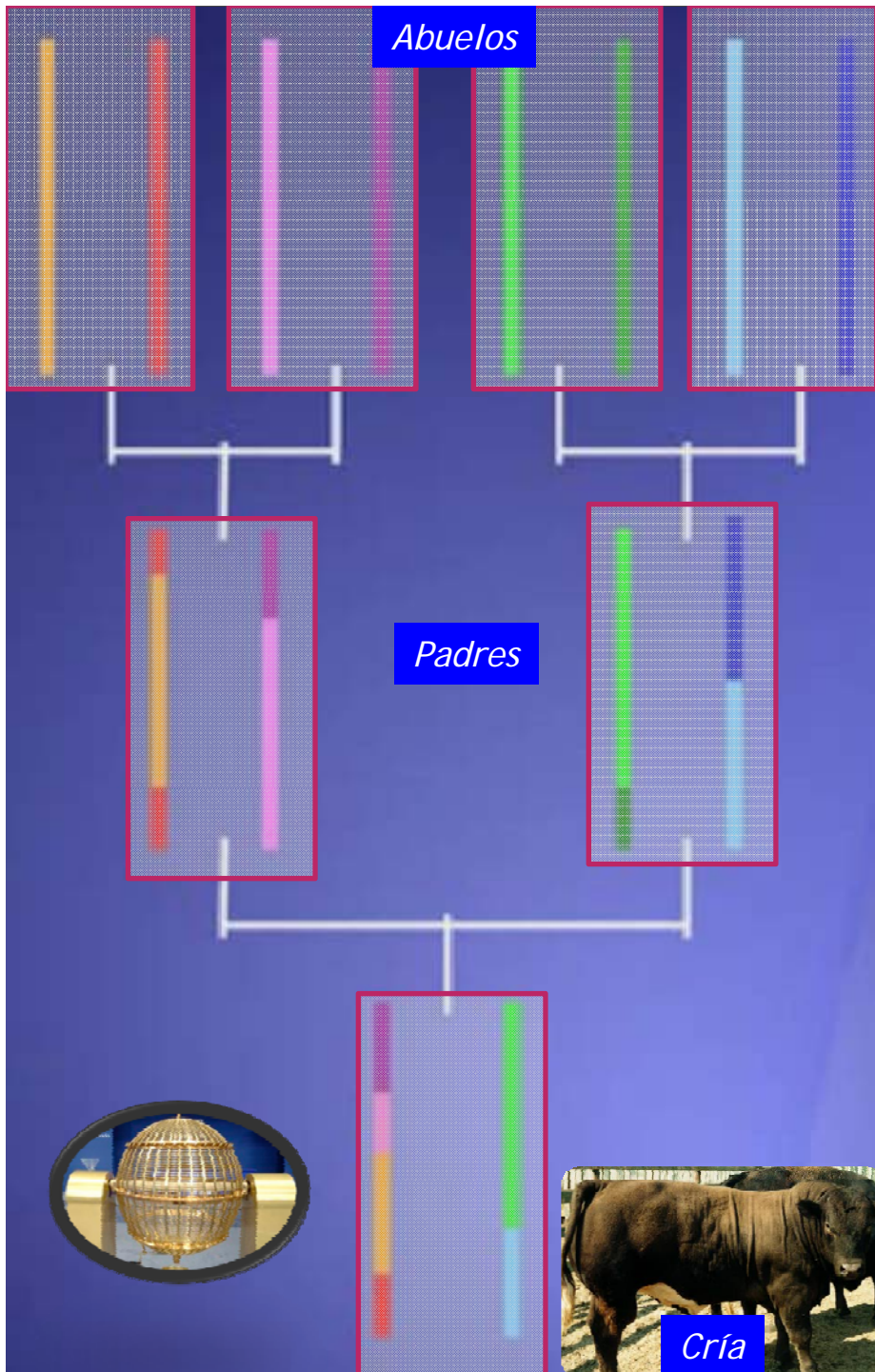
cromosoma



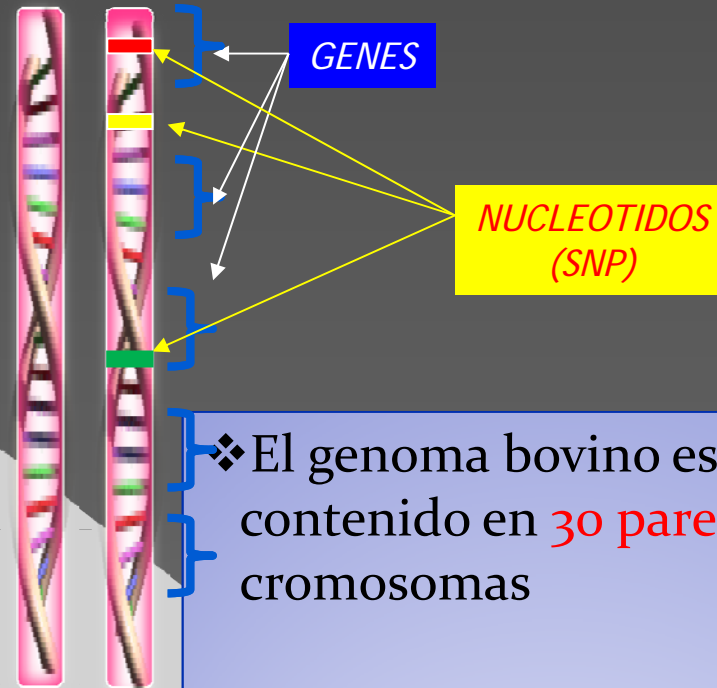
- Los genes son **segmentos de ADN** que llevan consigo una instrucciones para **construir una proteína** con una función específica
- Esta función puede estar vinculada **al desarrollo o funcionamiento** de una función fisiológica normal (crecimiento muscular, producción de leche ,etc)

*A-Adenina C-Citosina
G-Guanina T-Timina*





TRANSFERENCIA DE LA INFORMACION GENETICA



Cromosomas

- ❖ El genoma bovino está contenido en **30 pares** de cromosomas
- ❖ Un miembro del par cromosómico proviene del **padre** y el otro de la **madre**
- ❖ El “**azar**” determina la composición genética de un animal

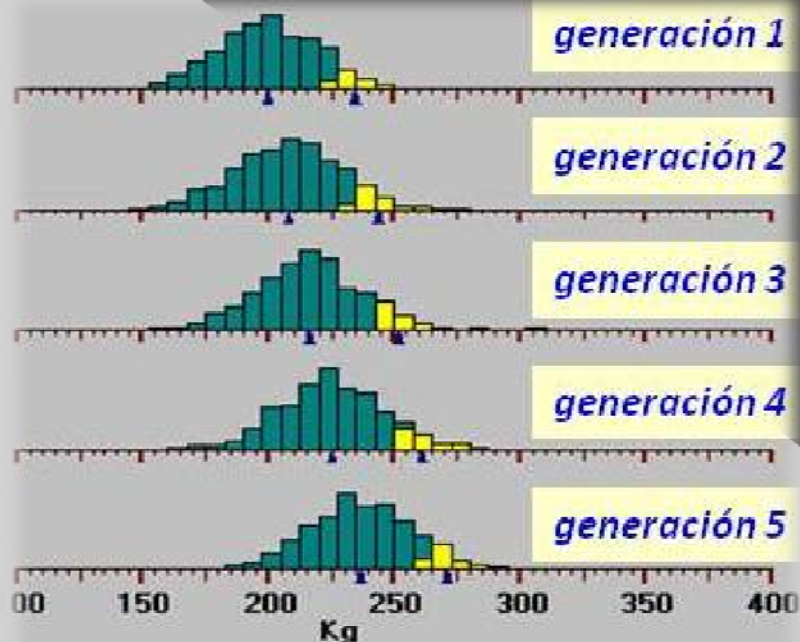
HASTA HACE POCO TIEMPO.....

**PERO...DÓNDE ESTÁN
LOS GENES???**



Como no existían herramientas para “ver” la composición genética de un animal la selección debía realizarse con base en el **rendimiento observado (FENOTIPO)**

MEJORAMIENTO GENETICO TRADICIONAL



1. Definir la Meta (objetivo) de selección
(Ej. Producir carne)
2. Medir rasgos relacionados con Meta
(Ej= Ganancia de Peso - gramos/día)
3. Calcular valores genéticos
(Ej= DEP/ Diferencia Esperada Progenie)
4. Seleccionar individuos superiores
(Ej= 5% superior en DEP)
5. Realizar apareamientos controlados entre individuos superiores
6. ...repetir (1 a 5) en cada generación!!!

•POR QUE FUNCIONA?

- Porque la selección por Ganancia de Peso **incrementa la frecuencia** de los genes relacionados con crecimiento

RASGOS DE IMPORTANCIA ECONOMICA

(Indispensable)
Identificación
UNICA y PRECISA!!!



Producción
kg leche
kg-% grasa
kg-% proteína



Producción
Ganancia de Peso
Terneza de la carne
Marmoleo

Tipo
Ubre
Patas
etc



Fertilidad
Edad a parto
%Preñez/Int. Entre Partos
Servicios-Concepción

Salud
Mortalidad
Mastitis (CCS)
Problemas de patas

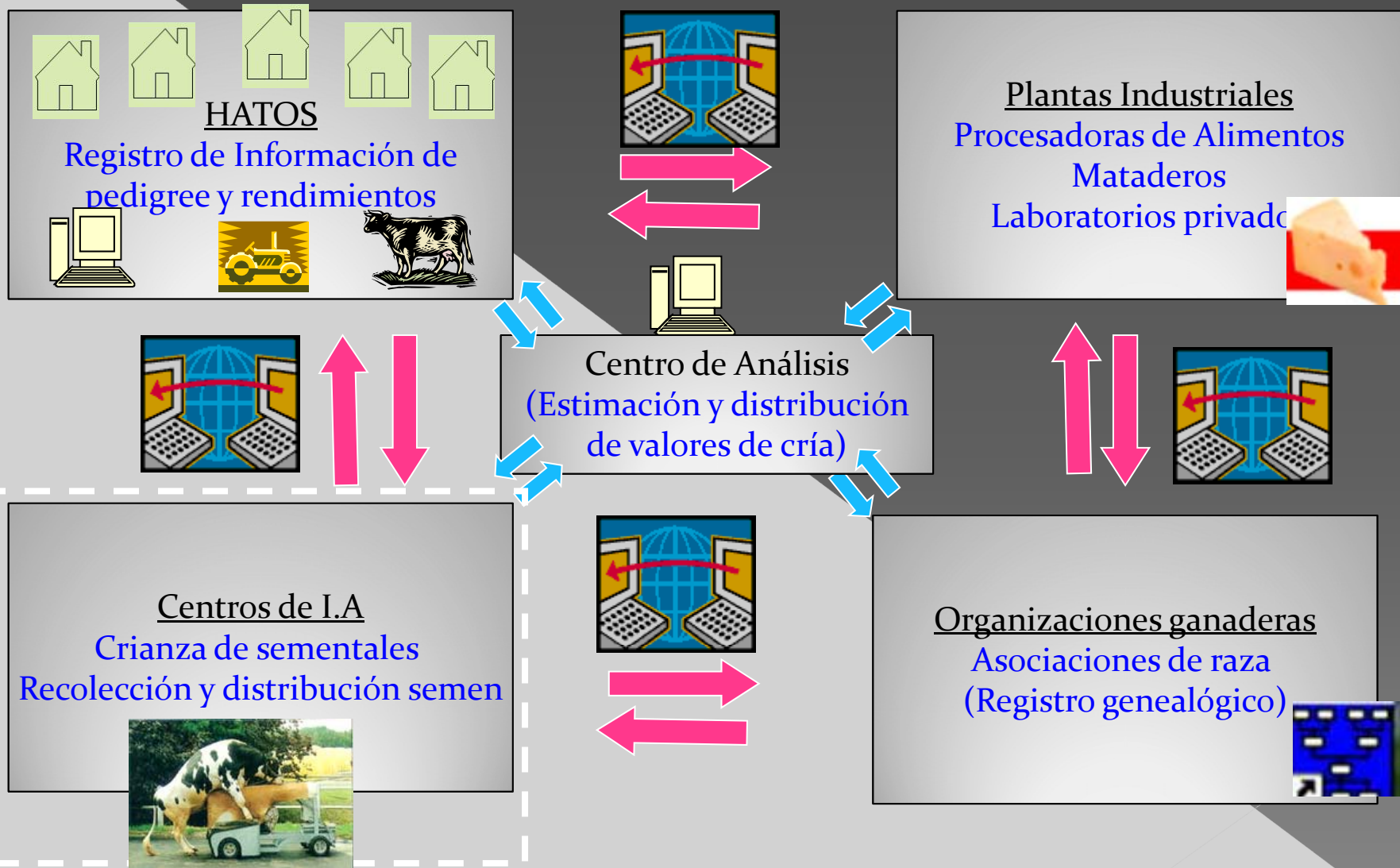


Consumo de ali
kg concentrado
kg suplementos
Peso corporal



• La mayoría de los rasgos de importancia comercial (ej. producción de leche, peso corporal, tamaño, velocidad, etc) están definidos por la acción conjunta de una considerable cantidad de genes (son poligénicos).

ORGANIZACIÓN DE UN ESQUEMA DE SELECCIÓN TRADICIONAL

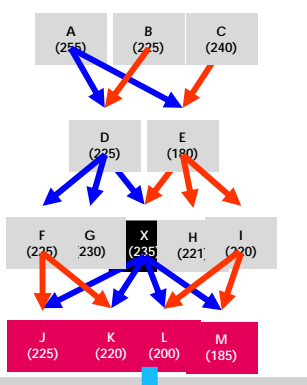


- Los programas de mejoramiento genético a nivel poblacional involucran la participación coordinada de los distintos sectores (productores, asociaciones, industria, etc)

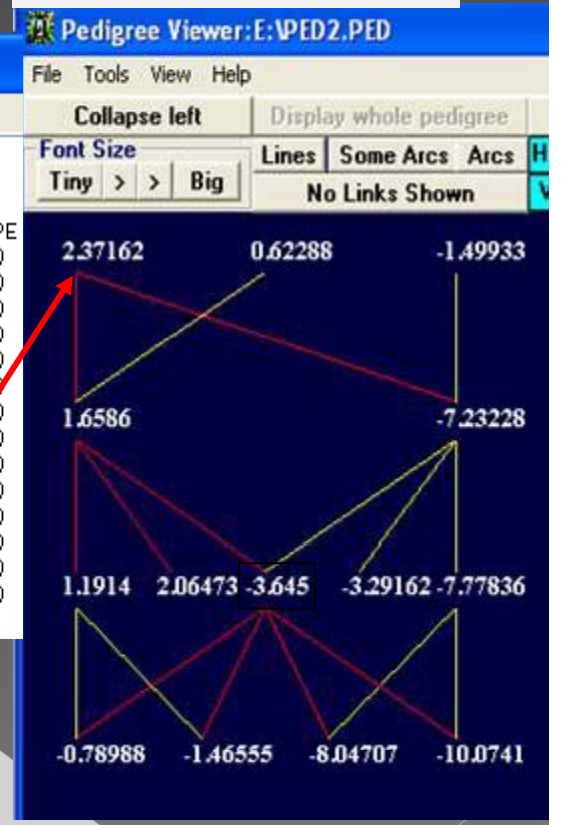
ANALISIS DE INFORMACION PARA ESTIMACION DE VALORES GENETICOS

individuo X

Representación gráfica (Arbol Genealógico)



Representación gráfica (de valores de cría)



blup.out - Notepad

MEAN	1		
Mean	222	0.00356	
	BLUP	EBV	F
1	2.37162	0.00000	255.00
2	0.62288	0.00000	225.00
3	-1.49933	0.00000	240.00
4	1.65860	0.00000	225.00
5	-7.23228	0.00000	180.00
6	1.19140	0.00000	225.00
7	2.06473	0.00000	230.00
8	-3.64500	0.12500	235.00
9	-3.29162	0.00000	221.00
10	-7.77836	0.00000	220.00
11	-0.78988	0.15625	225.00
12	-1.46555	0.15625	220.00
13	-8.04707	0.15625	200.00
14	-10.07410	0.15625	185.00

Archivo de Entrada

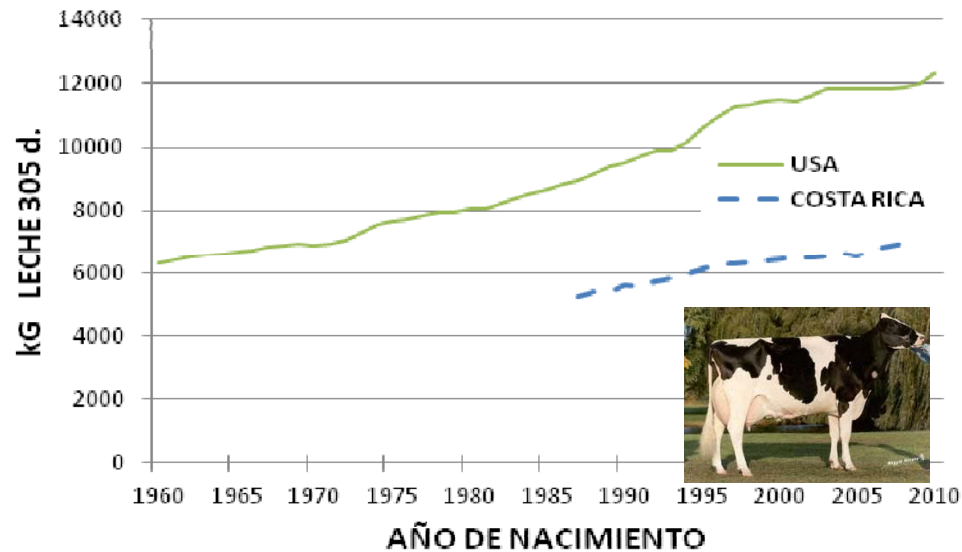
```

File Edit Format View Help
ID PADRE MADRE PESO
A 0 0 255
B 0 0 225
C 0 0 240
D A B 225
E A C 180
F D 0 225
G D 0 230
X D E 235
H 0 E 221
I 0 E 220
J X F 225
K X F 220
L X I 200
M X I 185
  
```

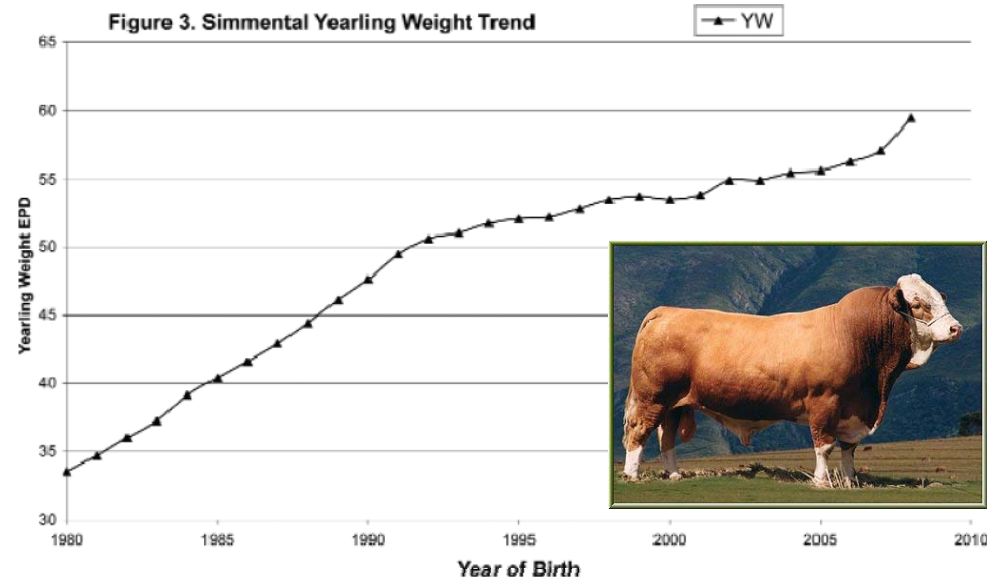


DEP DIFERENCIA ESTIMADA DE PROGENIE / Ganado de Carne
PTA HABILIDAD DE TRANSMISION PREDICHA/ Ganado de Leche
 Ejemplo: DEP= 2.37 kg, se espera que su progenie sea superior al promedio

LA SELECCIÓN TRADICIONAL SI FUNCIONA!!



TENDENCIA PRODUCCION
DE LECHE POR LACTANCIA
-HOLSTEIN-



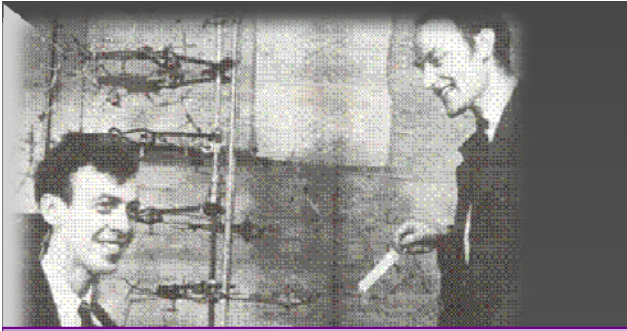
TENDENCIA GENETICA (DEP)
PESO AL AÑO
-SIMMENTAL-

LIMITACIONES DE LA SELECCIÓN TRADICIONAL

- Se tarda mucho tiempo para obtener un estimado confiable del valor genético (DEP/ PTA)
(Ej. Hasta 5 años en un toro lechero)
- Es difícil comparar animales criados en distintas condiciones
(Ej. Consumo de concentrado vs. Pastoreo)
- Alto costo de la medición de los rasgos en una población grande
(Ej. Medición de producción en cientos de vacas)
- Muchos rasgos solo se pueden medir en un sexo
(Ej. Producción de Leche)
- Muchos rasgos solo se pueden medir en edad adulta
(Ej. Longevidad)
- Muchos rasgos solo se pueden medir después de sacrificio
(Ej. Calidad de la carne)
- Para medir el rasgo a veces es necesario exponer al animal a condiciones inadecuadas
(Ej. Resistencia a enfermedades)



TODO CAMBIA!! -ANÁLISIS DE ADN-



Muestra:
Pelo
Sangre
Semen



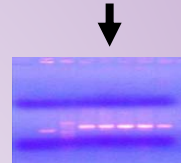
Extracción de ADN



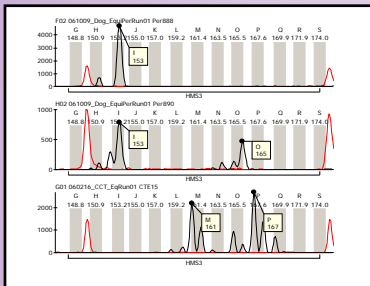
Cuantificación
del ADN



Amplificación
por PCR



Chequeo
del producto
de PCR



Detección de los alelos
mediante el
Electroferograma



Detección de las variantes
alélicas a través del
secuenciador automático

❖ Desde finales del siglo XX ya existen tecnologías que permiten la **identificación de genes** relacionados con características específicas

❖ Se han utilizado para:

1. Identificación de Portadores de anomalías genéticas
2. Selección Asistida por Marcadores (M.A.S)
3. Identificación/Verificación de Parentescos/Trazabilidad)

LIMITACIONES:

❖ Inicialmente el alcance de estas tecnologías fue limitado y su costo muy alto, por lo que su uso había sido bastante puntual

1. USO DE ANALISIS DE ADN PARA DIAGNOSTICO DE ANOMALIAS GENETICAS



AGNACIA
recesivo, solo machos



EPITELIOGENESIS IMPERFECTA
recesivo



ACONDROPLASIA
(BULLDOG, recesivo)



ALOPECIA
recesivo



CARA TORCIDA
(recesivo)



SINDACTYLIA
(PATA DE MULA, recesivo)



MALFORMACION VERTEBRAL COMPLEJA (CVM, recesivo)

LIMITACIONES:

- ❖ Son **muy pocas** las anomalías causadas por un solo gen
- ❖ La mayoría de las enfermedades son **poligénicas** y multifactoriales



ENANISMO
(recesivo)

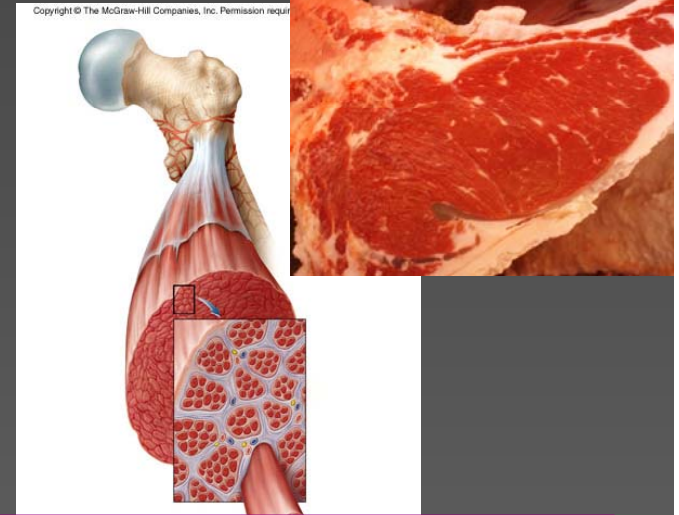
2. SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES GENETICOS (M.A.S)



GENES DE IMPORTANCIA PARA UN RASGO (Ej. TERNEZA)

MARCADORES ASOCIADOS (NUCLEOTIDOS)

- ❖ Conforme el análisis de ADN se hizo más eficiente fue posible explorar más en detalle el genoma
- ❖ Se identificaron **variantes moleculares** (MARCADORES) localizados en cromosomas específicos que **se asocian** con algunos rasgos de gran importancia económica
- ❖ La **SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES (M.A.S)** hizo posible identificar los individuos portadores de variantes favorables



- ❖ Ej 1 Terneza de la Carne
Genes de la Calpaína y Calpastatina



- ❖ Ej 2 Calidad de la Leche
Gen Kappa-Caseína

2. EJEMPLO: SELECCIÓN PARA TERNEZA DE LA CARNE

GeneSTAR RESULTS LEGEND

EXAMPLE REPORT		GeneSTAR EXAMPLE Results		EXAMPLE REPORT	
Animal ID	Gender	Bar Code	Breed	GeneSTAR RESULTS	GPD™
ABC	F	426732999	Simmental	Quality Grade QG1★ QG2★ QG3★ QG4★	33.86%
Reg No:	1234578			T1★ T2★ T3★	-2.2 lbs
Reg Name:	Example Animal ABC	<input type="checkbox"/> Publication		FE1★ FE2★ FE3★ FE4★	-3.96 lbs
			GeneSTAR Black	EDED	HB



Terneza de la Carne:
3 marcadores asociados (T₁, T₂, T₃)

Las pruebas de ADN indican cuántas copias tiene un animal de la variante favorable para terneza de la carne

★ ★ (2 copias)

- ★ (1 copia)

- - (ninguna copia)

014AN00171	M	19573	Angus	GeneSTAR Tenderness	T1=2 T2=2 T3=2	★ ★ ★ ★ ★	T= -2.2
Reg No:	12588758			Publication ¹	<input type="checkbox"/>		
Reg Name:	Spring Cove Endurance 360						
014AN00172	M	19576	Angus	GeneSTAR Tenderness	T1=2 T2=2 T3=2	★ ★ ★ ★ ★	T= -2.2
Reg No:	12007667			Publication ¹	<input type="checkbox"/>		
Reg Name:	Gardens Prime Time						
014AN00188	M	19575	Angus	GeneSTAR Tenderness	T1=2 T2=0 T3=1	★ ★ ★	T= -1.1
Reg No:	12915498			Publication ¹	<input type="checkbox"/>		
Reg Name:	Summitcrest Prime Cut 1G42						
014AN00192	M	19578	Angus	GeneSTAR Tenderness	T1=2 T2=0 T3=0	★ ★	T= -0.7
Reg No:	12174018			Publication ¹	<input type="checkbox"/>		
Reg Name:	Mill Coulee 6807-423						

LIMITACION:

❖ Aunque los marcadores (T₁, T₂, T₃) son importantes, en realidad existen muchos más genes involucrados en la terneza de la carne

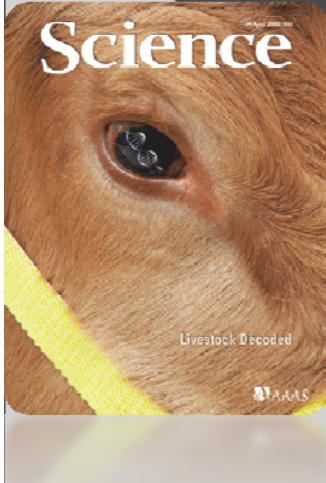
3. IDENTIFICACION/VERIFICACION DE PARENTESCOS/ TRAZABILIDAD



El análisis de ADN constituye una huella genética imborrable, por lo que puede ser utilizada para:

- ❖ **Verificación de parentescos** : Confirmación de genealogía para evaluaciones genéticas, genética forense (CSI), transacciones comerciales, etc.
- ❖ **Trazabilidad**: Rastreo de animales (o sus productos) a lo largo de una cadena de comercialización (origen de contaminaciones)

SECUENCIACION DEL GENOMA BOVINO (ABRIL 2009)



The Genome Sequence of Taurine Cattle: A Window to Ruminant Biology and Evolution

The Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium,* Christine G. Elsik,¹ Ross L. Tellam,² Kim C. Worley³

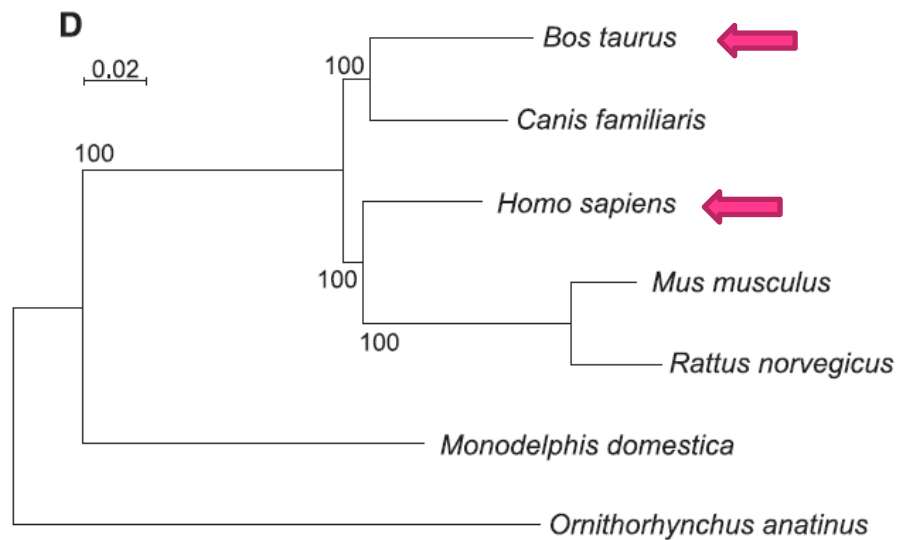
To understand the biology and evolution of ruminants, the cattle genome was sequenced to about sevenfold coverage. The cattle genome contains a minimum of 22,000 genes, with a core set of 14,345 orthologs shared among seven mammalian species of which 1217 are absent or undetected in noneutherian (marsupial or monotreme) genomes. Cattle-specific evolutionary breakpoint regions in chromosomes have a higher density of segmental duplications, enrichment of repetitive elements, and species-specific variations in genes associated with lactation and immune responsiveness. Genes involved in metabolism



Dominette (Hereford)

```
AGTCCATGGGGTTCAGAGTCAGACAC
AGTGGAGTCACACACATACACACGGC
CCCACGCTGGGTTAAGGCGGGGCTGA
GACAAGGGCAGGTGAGGCCTCCA
```

El “rompecabezas” bovino tiene aprox 3 billones de “piezas” (A-T-C-G) y 22 000 genes



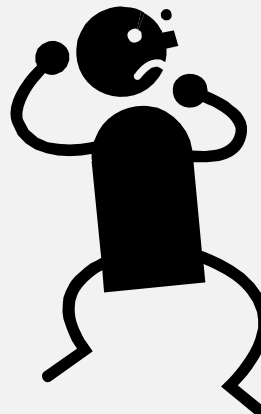
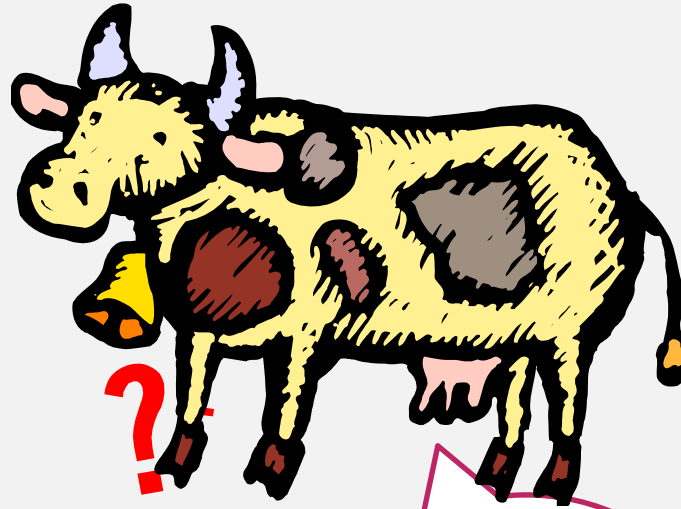
extensively diverged from
for understanding
lk and meat production.

Curiosidades:

- ❖ Los bovinos tienen cerca del **80%** de los genes en común con los humanos
- ❖ Hay más similitud entre **humanos y ratones** que entre humanos y vacas

¡Secuenciar el Genoma no es lo mismo que
ENTENDER
el Genoma

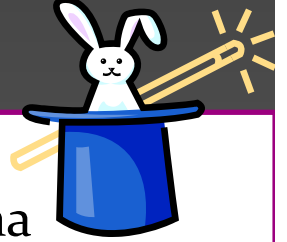
Para entender el GENOMA
es necesario secuenciar
múltiples animales y
establecer **asociaciones**
entre diferentes Genotipos y
diferentes Fenotipos



AGTCCATGGGGTIGCA
GAGTCAGACACAGTG
GAGTCAACACATACA
CACGGCCACGCTG
GGTAAACGGGGCTA
GACAAACGAGGTGA
TCGATCGAGCCTCCCA

PERO... ¡Secuenciar el Genoma completo de todos los vacunos de una población
es **todavía** muy caro!

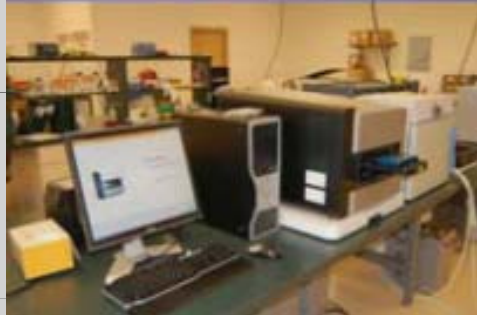
SIN EMBARGO... LLEGARON LOS CHIPS GENOMICOS!!!



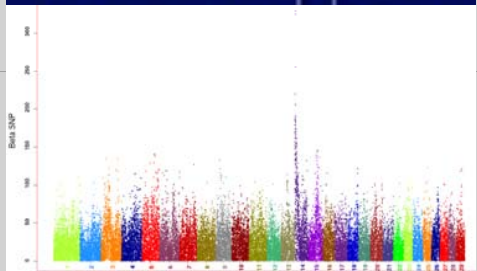
❖ Es posible realizar “**ESCANEOS**” **EN SITIOS (MARCADORES) ESTRATEGICOS** del genoma mediante chips genómicos por precios razonables

❖ Ejemplos (Asoc. Holstein/ USA):

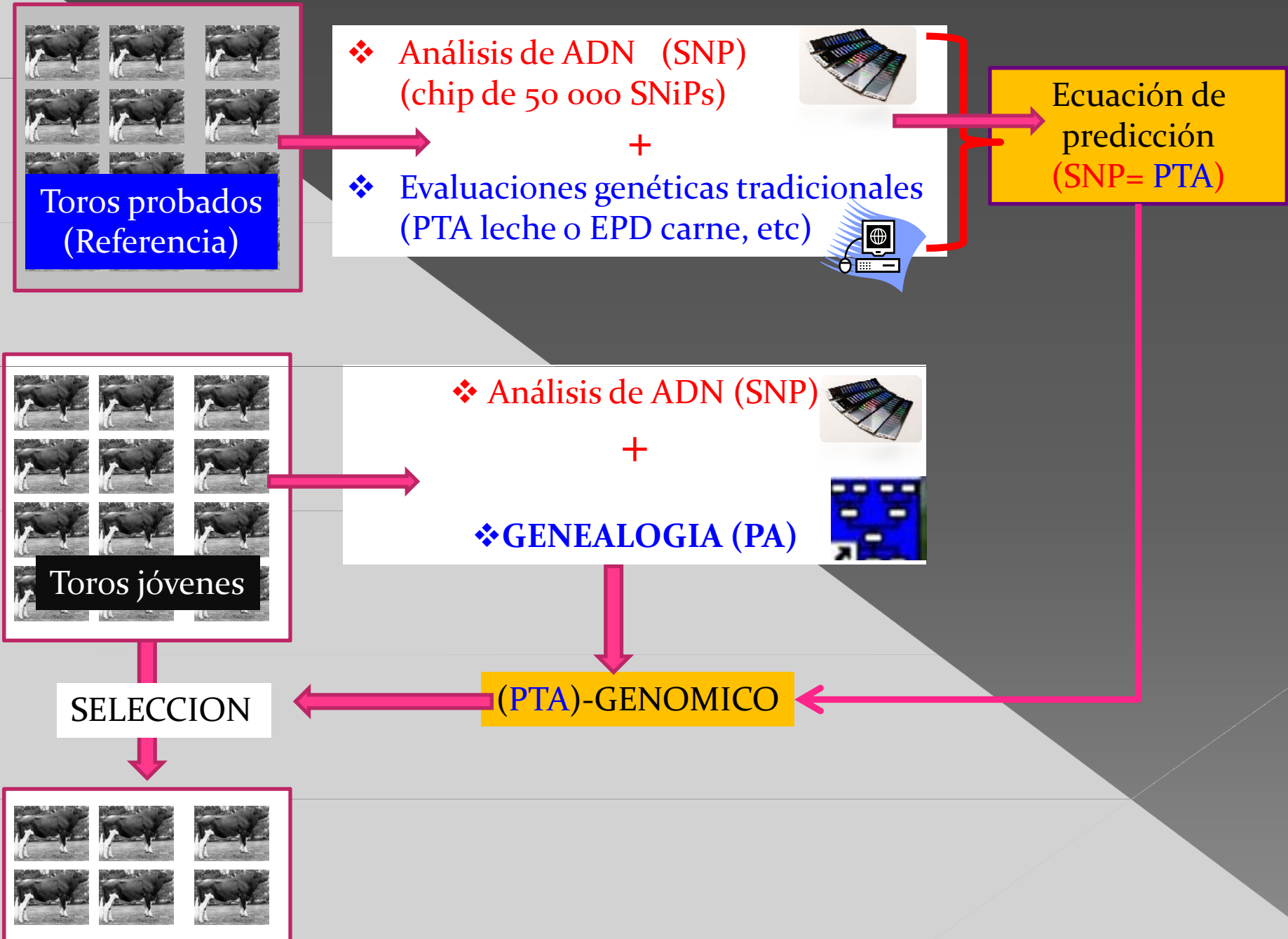
Baja Densidad 9 K=	9 000 marcadores	\$45
Alta Densidad 50 K=	50 000 marcadores	\$125
Super Alta Densidad 800 K=	800 000 marcadores	\$225



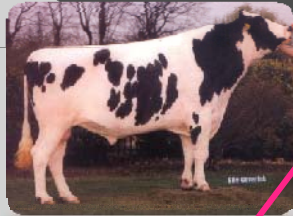
GGATTCACTGCAAA
GGATTCACTGCAAA
GGATTCAC**A**GCAAA
GGATTCACTGCAAA
GGATTCACTGCAAA



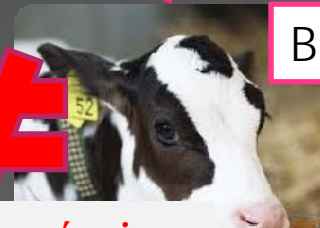
BASE PARA IMPLEMENTACION DE LA SELECCIÓN GENOMICA/2009



VALORES GENETICOS TRADICIONALES vs. GENOMICOS (CASO: HERMANOS COMPLETOS)



Selección Tradicional



Selección Genómica

TERNERO	MERITO GENETICO (\$)	
	SELECCION TRADICIONAL	SELECCION GENOMICA
A	\$416	\$411
B	\$416	\$207
Confiability	≈ 35%	≈ 70%

En selección tradicional 2 terneros recién nacidos (hermanos completos) tendrían un mismo valor genético, mientras que en selección genómica podría ser muy distinto

LIMITACIONES DE LA SELECCIÓN GENÓMICA

- Se requiere de una Población de Referencia **de tamaño considerable (miles de animales)** para establecer Asociaciones SNP= PTA que sean más confiables que la Selección Tradicional
- Las asociaciones **ENTRE MARCADORES Y VALORES GENÉTICOS pueden ser distintas en diferentes razas**, lo que implica que deben formarse diferentes poblaciones de referencia para cada raza
- Las asociaciones **ENTRE MARCADORES Y VALORES GENÉTICOS pueden cambiar en el transcurso del tiempo**



ANIMALES CON GENOTIPO EJEMPLO: RAZAS LECHERAS/ USDA



	AYRSHIRE		PARDO SUIZO		GUERNSEY		HOLSTEIN		JERSEY		SHORTHORN		Otros		Total
50K V1	0	20	91	5222	0	0	19518	34453	913	3774	0	0	0	0	63991
50K V2	91	351	126	1320	0	0	28419	33003	823	2993	2	0	1	0	67129
3K	3	0	471	11	5	0	49198	3925	9680	197	0	0	1	0	63491
HD	9	518	3	182	3	94	294	1984	27	164	0	0	0	0	3278
LD	182	13	325	16	0	0	124296	2976	8360	168	0	1	1	0	136338
GGP	55	5	481	287	0	4	40191	13418	12466	1510	4	1	1	0	68423
GGP2	59	9	125	67	1	5	12229	4541	3363	633	0	7	0	0	21039
Total	399	916	1622	7105	9	103	274145	94300	35632	9439	6	9	4	0	423689

- Durante los últimos 4 años más de **420 000** bovinos lecheros ya han sido genotipados utilizando chips genómicos de baja , media o alta densidad
- Casi **2/3** de los toros IA (HOLSTEIN) comercializados actualmente son **Toros Genómicos!!**

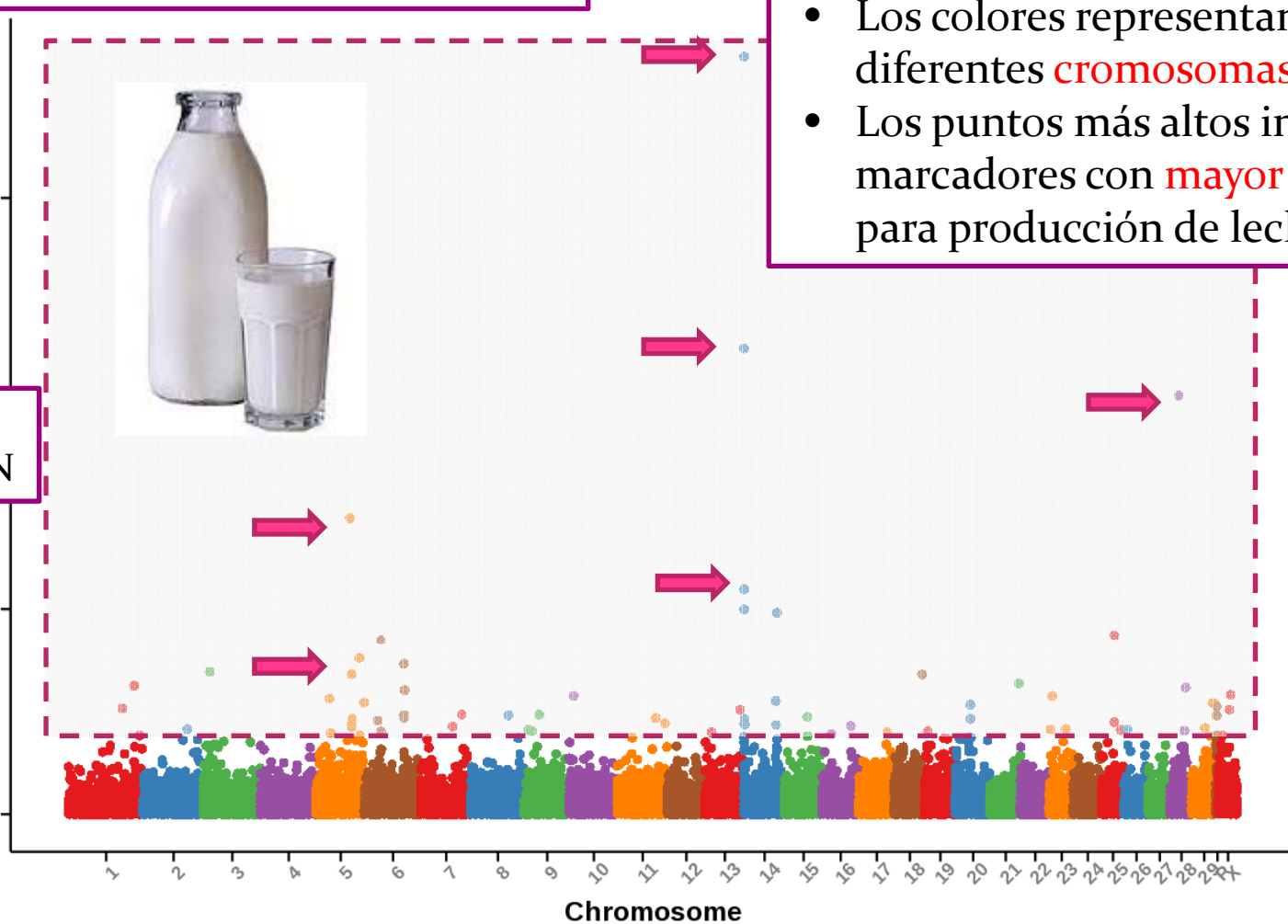
ASOCIACION DE MARCADORES VS. RASGOS PRODUCTIVOS EN GANADO HOLSTEIN-2013



PRODUCCION DE LECHE

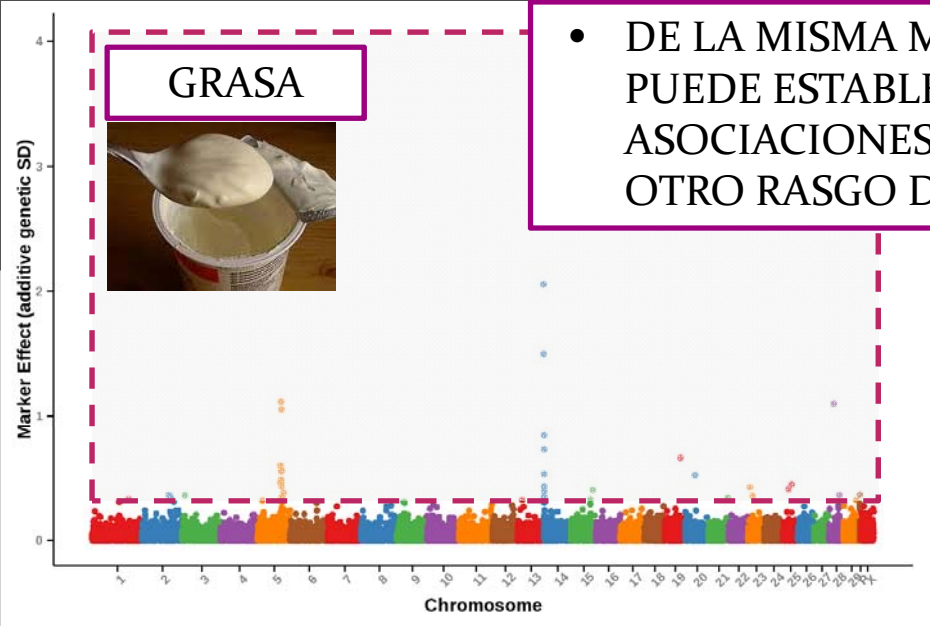


FUERZA DE ASOCIACION

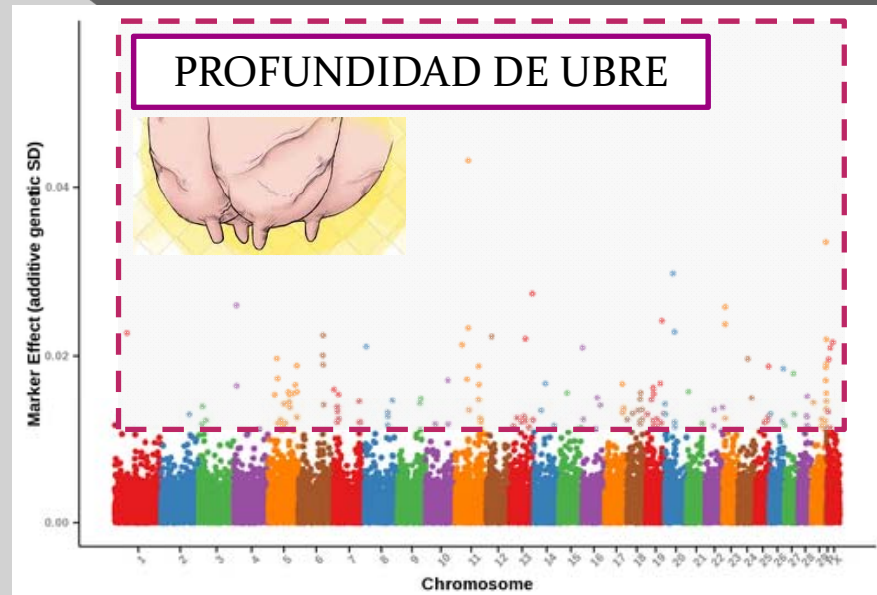
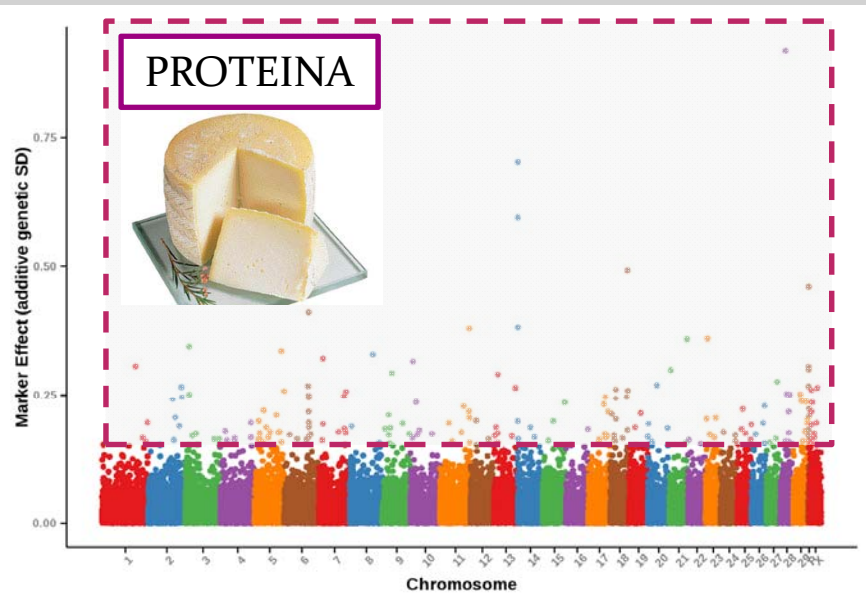


- Cada punto representa un marcador genético (**SNP**)
- Los colores representan diferentes **cromosomas**
- Los puntos más altos indican marcadores con **mayor relación** para producción de leche

ESTUDIOS DE ASOCIACION DE MARCADORES VS. RASGOS PRODUCTIVOS EN GANADO HOLSTEIN-2013



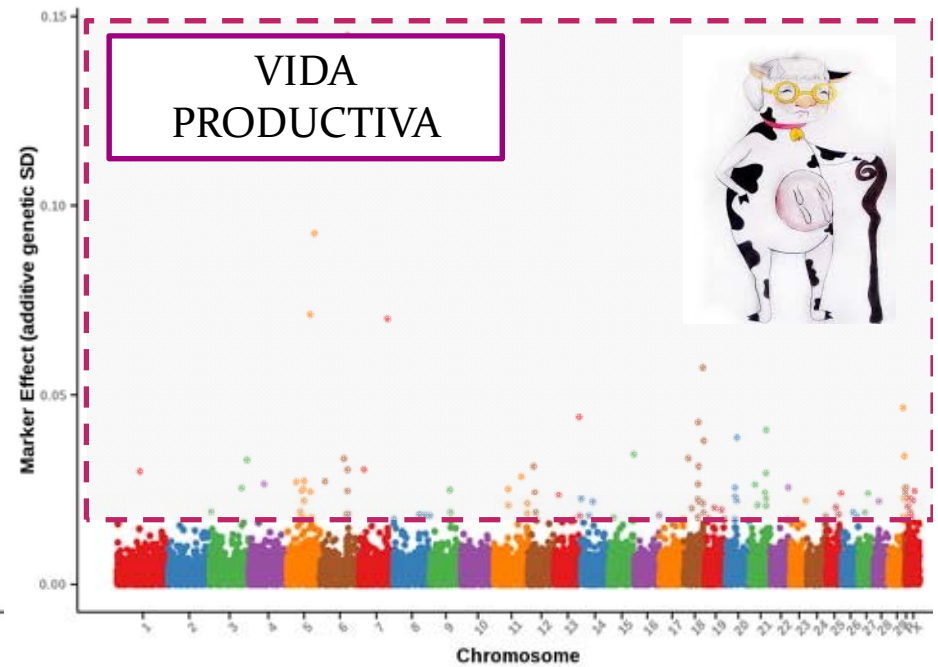
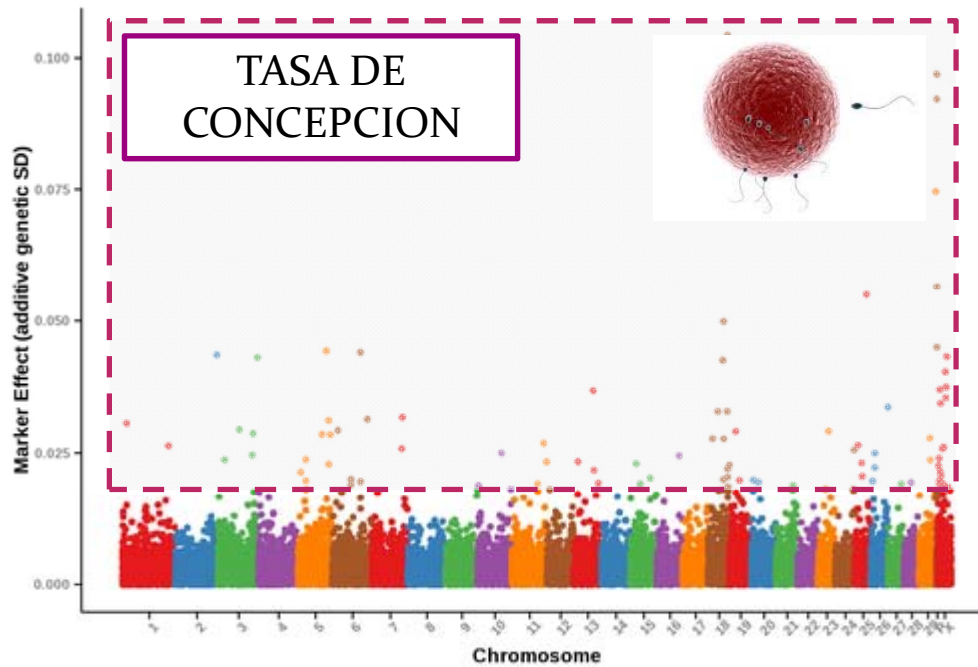
- DE LA MISMA MANERA SE PUEDE ESTABLECER ASOCIACIONES CON CUALQUIER OTRO RASGO DE IMPORTANCIA



ESTUDIOS DE ASOCIACION DE MARCADORES VS. RASGOS PRODUCTIVOS EN GANADO HOLSTEIN-2013



- RASGOS FUNCIONALES



PERO ...ES CONFIABLE??
CONFIABILIDAD EVALUACION TRADICIONAL vs. GENOMICA
(EN TOROS HOLSTEIN JOVENES)

Trait	Confianza		
	PA (Promedio Padres) Tradicional	Confianza Genómica	Ganancia Genómica
MNV\$	37%	65%	28%
Leche	39%	69%	30%
Grasa	39%	69%	30%
Vida Produc.	32%	60%	28%
DPR (Tasa Preñez Hijas)	31%	58%	27%
PTA Tipo	40%	65%	25%

Fuente: Holstein World

Hay un marcado aumento en confiabilidad para evaluaciones genómicas (en la raza HOLSTEIN)

$$\frac{\text{Progreso genético} = \text{Intensidad (+)} \times \text{Confiabilidad (+)} \times \text{Variación genética}}{\text{Intervalo entre Generaciones (-)}}$$

EFICIENCIA DE PREDICCIÓN DE VALORES GENÓMICOS

Mérito Neto (\$)

Genómico (2010)

Con +100 hijas (2013)

Sire

Aug 10 NMS

April 13 NMS

Observer

791

792

Domain

657

416

Bowser

689

455

Trigger

685

558

Explode

569

423

Gold Digger

652

513

Destry

601

340

Boxer

609

324

Sebastian

622

396

Jock

679

639

Average

655

486

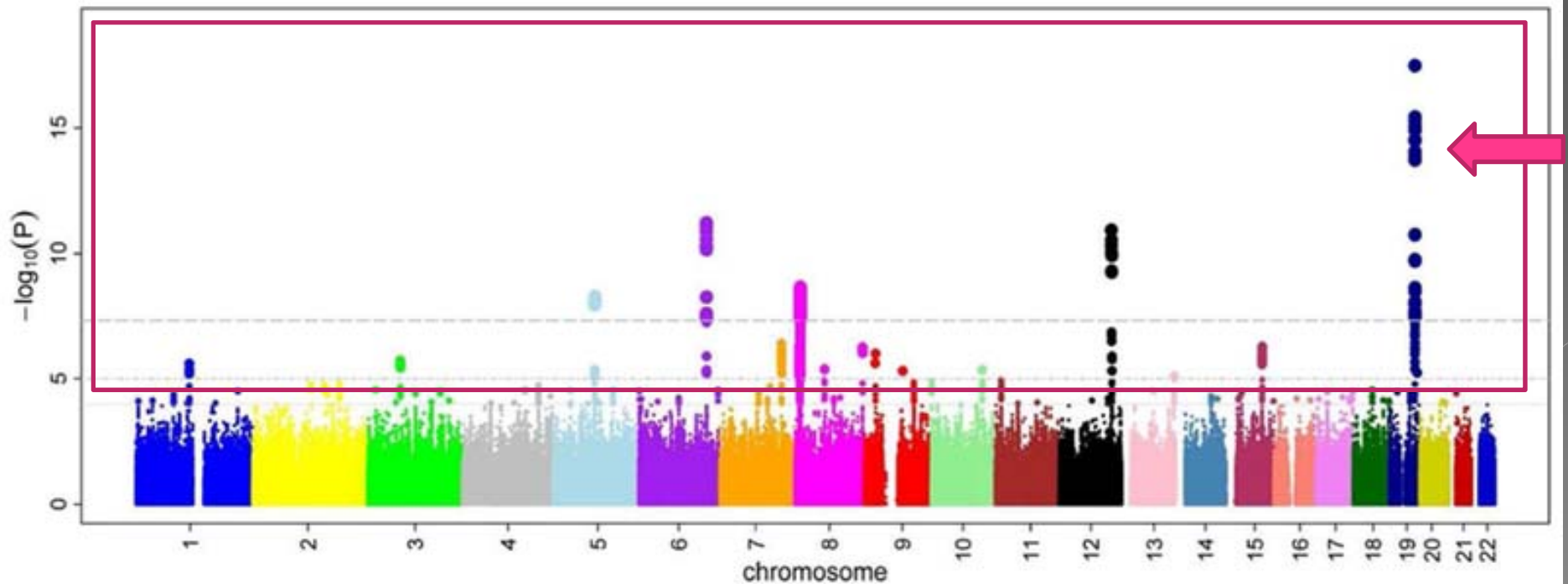


Fuente: Holstein World

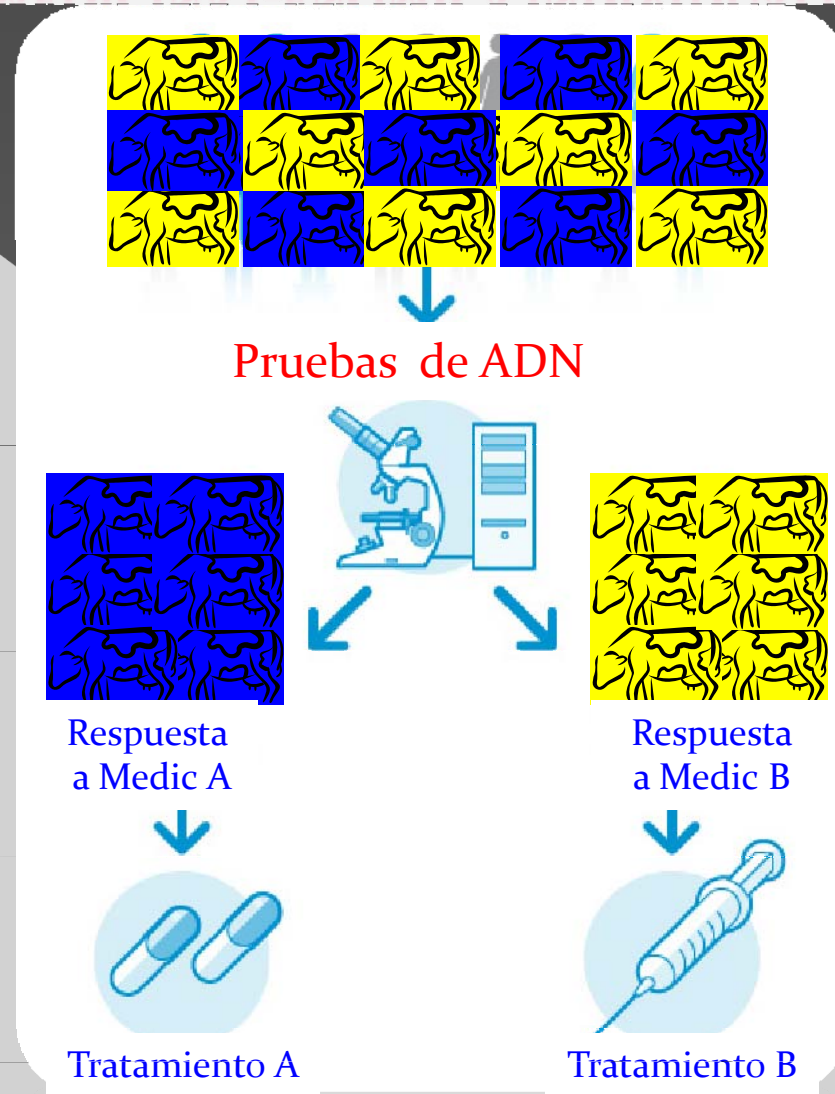
- Se comprueba que las predicciones genómicas son **eficientes**
- En 300 toros la diferencia promedio en MN (2010 – 2013) fue \$150, o sea, las evaluaciones genómicas tienden a **sobre-estimar** el potencial genético

-OTRAS APLICACIONES- ESTUDIOS DE ASOCIACION DE GENOMA COMPLETO (G.W.A.S) EN EPIDEMIOLOGIA GENETICA

- Se obtienen los perfiles genéticos de 2 grupos :
Individuos Normales (**Control**) vs. Individuos Enfermos (**Casos**) usando chips de alta densidad (>1 millón K)
- Se comparan estadísticamente ambos grupos y se detectan los SNP con mayor **fuerza de asociación** con la enfermedad



OTRAS APLICACIONES MEDICINA GENOMICA INDIVIDUALIZADA



- Drogas diseñadas para **perfiles genéticos específicos**
- Diagnóstico de **predisposición genética** para distintas patologías

EN SINTESIS..
BENEFICIOS DE LA SELECCIÓN GENOMICA

- Aumento de la **Confiabledad** de la selección
 - Reducción del **Intervalo Generacional**
 - Aumento de la **Intensidad de Selección**
- MAYOR PROGRESO GENETICO*
- Mejor uso de **recursos limitados** de evaluación
 - Evaluación de rasgos de **difícil medición**
 - Oportunidad para **Estudios de Asociación del Genoma Completo G.W.A.S**
 - Oportunidad para **reducir la consanguinidad**
 - Oportunidad para **apareamientos complementarios** según perfil genómico

GRACIAS POR SU ATENCION

