

DIVERSIDAD GENETICA EN OVEJAS DE LOS HUMEDADES DE LA REGION ORIENTAL DEL PARAGUAY

GENETIC DIVERSITY IN SHEEP OF THE WETLANDS OF EASTERN PARAGUAY

Ochipinti G.¹, Núñez L.^{2,3}, Cazal C.², Samudio A.², Castro L.^{2,3}, Ramírez L.², León D.², Martínez A.⁴, Oka Obara A.⁷, Landi V.⁴, Delgado J.V.⁴, Martínez O.R.^{5,6*}

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay.

²Maestría de Ciencias en Biotecnología, CEMIT-DGICT, UNA, San Lorenzo, Paraguay.

³Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay.

⁴Laboratorio de Genética Molecular Aplicada, Universidad de Córdoba, España.

⁵RED CONBIAND

⁶Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas de la Dirección General de Investigación Científica y Tecnológica de la Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay. * criollos.py@gmail.com

⁷Profesor emerito de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay.

Abstract

Few genetic studies have been conducted in sheep populations in Paraguay. This work aimed to identify some indices of genetic diversity within populations of sheep, bred in the wetlands of Ñeembucú, Paraguay. A total of 64 animals were selected from 31 farms, four departments. Hair samples were collected from each animal selected. Up to 28 samples were obtained from Creole type sheep animal according to phenotype: medium head, long nose, thin bones, little wool, mediating transport structure to high. Furthermore, Hampshire (5), Texel (7), Corriedale (n3 4), Santa Ines (n4 5), Dorper (n5 6) and admixed sheep (Population A; 10) samples were used as reference sheep populations due to the fact that they are the most widely used sheep in the area of study. The samples were sent to the laboratory of molecular genetics at the University of Cordoba, Spain, and was supported CONBIAND Network. We used a panel of 20 microsatellite markers. The population with the highest number of alleles was the Creole-type population with 7.25, followed by the Population A (native) with 5.30, 4.80 Hampshire race, Texel and Santa ines with a 4.30 each, Dorper with 4.20, and Corriedale with 3.40. The observed heterozygosity for the population Santa Ines was 0.768, 0.753 Hampshire, Creole-type 0.739, 0.726 Texel, Dorper 0.722, Corriedale 0.702 and finally Population A in 0701. Polymorphic Information Content for the Creole-Type population 0.681, Hampshire 0.641, Santa Ines 0.632, Population A 0.617, Texel 0.614, Dorper 0.592, and Corriedale 0.537. According to these parameters of diversity, the population at greatest genetic variability is Creole-type.

Keywords:

Ñeembucú
Dpto. Oriental
Sheep
Microsatellites

Palabras clave:

Ñeembucú
Dpto. Oriental
Ovinos
Microsatelites

Resumen

Escasos estudios genéticos han sido realizados en poblaciones ovinas en Paraguay por lo que este trabajo tuvo como objetivo conocer algunos índices de diversidad genética dentro de cada población ovina, criada en los humedales de Ñeembucú, Paraguay. Se seleccionaron 64 animales provenientes de 31 fincas, de cuatro departamentos. Se extrajeron muestras de pelos de cada animal seleccionado, y para ello se escogieron 28 animales del tipo ovino criollo: cabeza mediana, nariz alargada, huesos finos, poca lana, de estructura porte mediando a alto. Se utilizaron ovinos de las razas Hampshire (5), Texel (7), Corriedale (4), Santa Ines (5), Dorper (5) y Población A (variado 10) como poblaciones ovinas de referencia por ser la genética más utilizada en la zona. Las muestras fueron enviadas al laboratorio de genética molecular de la Universidad de Córdoba, España, y contó con el apoyo de la Red CONBIAND. Se utilizó un panel de 20 marcadores microsatelites. La población con mayor número de alelos fue la población Acriollada con 7.25, seguida de la Población A (nativa) con 5.30, la raza Hampshire con 4.80, Texel y Santa Ines con 4.30 cada uno, Dorper con 4.20, Corriedale con

3.40. La heterocigosis observada para la población Santa Ines 0,768, Hampshire 0,753, Acriollada 0.739, Texel 0,726, Dorper 0,722, Corriedale 0,702 y por ultimo Población A 0.701. El Contenido de Información Polimórfica fue para la población Acriollada 0,681, Hampshire 0,641, Santa Inés 0,632, Población A 0,617, Texel 0,614, Dorper 0,592, y Corriedale 0,537. Según estos parámetros de diversidad, la población con mayor variabilidad genética es la Acriollada.

Introducción

Los ovinos con características nativas, locales o criollas como se los conoce vulgarmente, se constituyen en un patrimonio genético importante del rebaño nacional, aunque se encuentran en inminente peligro de extinción, ya que la importación, introducción y utilización masiva de genética exótica y su posterior inclusión en los sistemas productivos del país, son cada vez más frecuentes. La importancia de estos ovinos criollos o locales radica en su adaptación y aclimatación a condiciones ambientales específicas del lugar que han habitado por tiempo prolongado, así como también por ser animales mucho más rústicos pero con bajos niveles productivos de lana y carne, además se destaca su resistencia a parásitos ya que prácticamente no reciben ningún tratamiento sanitario. El reconocimiento de las razas criollas ovinas por su gran valor de adaptación y resistencia a los diferentes ecosistemas del país y su valor determinante, en especial en las zonas más adversas para la cría eficiente donde las razas importadas presentan mayores problemas de adaptación, es un proceso que se está iniciando. Estos ovinos criollos están empezando a ser utilizados en algunos programas de cruzamiento o para la introducción de genes de adaptación y resistencia al clima y a diferentes parásitos (Martínez & Benítez, 2010). En este sentido es importante el estudio de la variabilidad genética ya que con estos datos podemos preservar dicho patrimonio genético. Para esta evaluación se utilizaron los siguientes parámetros; el número de alelos, la heterogeneidad y el contenido de información polimórfica (PIC). En relación al número de alelos se puede decir que es un indicador que nos permite identificar la variabilidad genética que existe en una población. La heterogeneidad es la frecuencia media de individuos heterocigotos por locus o, frecuencia media de *loci* heterocigóticos por individuo, se estima calculando la frecuencia de heterocigóticos para cada locus y dividiendo por el total de *loci*, generalmente se usa el término heterocigosis para referirse a Heterocigosis observada (H), y el de diversidad genética para referirse a la Heterocigosis esperada (He) (Quiroz, 2007). Un locus se define como polimórfico si la frecuencia del alelo más común es igual o menor a 0,99. Esta definición es claramente arbitraria y no hay razón de que pudiera ser de 0,95 o 0,995, o algún otro valor (Nei, 1975). Según Botstein et al. (1980), el contenido de información polimórfica (PIC) es un parámetro introducido como un indicador de la calidad de un marcador en estudios de cartografía génica. En los últimos años se ha popularizado su cálculo a fin de obtener una valoración de la calidad de un marcador para estudios genéticos (de segregación, de identificación y control de paternidad, de población) pues refleja el polimorfismo detectado. No obstante, dada su dependencia del número de alelos y de sus frecuencias, la información que aporta no es suficiente para basar en ella la elección de un marcador u otro (Moazami-Goudarzi et al., 1994). El objetivo de la presente investigación fue conocer algunos índices de diversidad genética dentro de cada población ovina, criadas en los Humedales del Ñeembucú y sus zonas de influencia.

Material y métodos

Fueron analizados un total de 64 animales, provenientes de 18 localidades de los departamentos de Ñeembucú, Cordillera, Central y San Pedro, todos en la región Oriental del Paraguay. Las muestras fueron tomadas de forma aleatoria en fincas de la zona mencionada, donde se consideró el fenotipo "acriollado". Vale decir ovejas con cabeza mediana, nariz alargada, hueso fino, poca lana y de estructura porte mediano y alto. Igualmente como poblaciones de referencia fueron incluidas en este estudio ovejas de razas reconocidas internacionalmente (razas transnacionales), cuyos grupos genéticos son ampliamente utilizados en Paraguay, Hampshire, Texel, Corriedale, Santa Inés, Dorper, la cual no es utilizada de forma extendida en nuestro país. Para la obtención de muestras de pelos de ovejas, se tuvieron en cuenta los siguientes criterios: los animales seleccionados fueron machos o hembras jóvenes, de entre 6 a 36 meses de edad. La identificación de la edad fue realizada por medio del conteo de dientes de los animales, de los cuales se seleccionaron los que poseían hasta 6 dientes permanentes. No se incluyeron en el trabajo machos castrados, tampoco machos y hembras que no tenían por finalidad la reproducción. Se utilizaron pelos de la cara y el ADN de las muestras fue extraído mediante el Kit BLOODCLEAN de purificación de ADN (BIOTOOLS -Biotechnological & Medical Laboratories, S.A., España) siguiendo las indicaciones del fabricante. Se han estudiado 20 microsatélites (BM 81251, BM18241, CSRD2471, CSSM661, ILSTS 0111, MAF651, SPS1151, TGLA1221, BM65261, HSC1, McM5271,

OarAE01491, OarCP341, OarCP491, OarFCB3041, RM0061, D5S21, MAF2091, MAF2141, OarFCB201). La separación por tamaños de los fragmentos obtenidos mediante la PCR fue realizado en un secuenciador automático ABI 377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). El análisis de tipificación alélica se obtuvo mediante los programas informáticos Genescan Analisis 3.1.2 y Genotyper 2.5. Estimaciones de heterocigosis esperada sobre el equilibrio de Hardy-WEINBERG (HE) y el contenido de información polimórfica (PIC) fueron obtenidas utilizando el programa complemento de Excel, Microsatélites (Excel @Ms toolkit).

Resultados y discusión

La población con mayor número de alelos fue la población Acriollada con 7.25, seguida de la población A (Nativa) con 5.30, la raza Hampshire con 4,80, Texel y Santa Inés con 4.30 cada uno, Dorper con 4.20, Corriedale con 3.40, este parámetro nos indica que a mayor número de alelos en una población mayor es la variabilidad genética que existe y viceversa. En la tabla I se observan los valores de heterocigosis media por marcador y por población utilizado. Se considera heterocigosis alta a valores superiores a 75% , 60 a 75% media a alta, 50 a 60% media, menores a 50% baja (Martínez, 2008). Según Ginja (2002), la heterocigosis es considerada una medida de variabilidad genética. Por tanto los términos heterocigosis y diversidad genética son utilizados sin discriminación en la bibliografía.

Tabla I. Valores promedios de Heterocigosis encontrada (*Average values of heterozygosity found*)

| | Acriollada | Corriedale | Dorper | SantaInes | Hampshire | PoblacionA | TipoTexel |
|---------------|------------|------------|--------|-----------|-----------|------------|-----------|
| Heterocigosis | 0,739 | 0,702 | 0,722 | 0,768 | 0,7535 | 0,701 | 0,726 |

Tabla II. Valores de Contenido de Información Polimórfica (PIC) (*Values of Polymorphic Information Content*)

| Locus | Acriollada | Corriedale | Dorper | SantaInes | Hampshire | PoblacionA | TipoTexel |
|------------|------------|------------|--------|-----------|-----------|------------|-----------|
| BM 81251 | 0,6115 | 0,5112 | 0,4102 | 0,6756 | 0,6218 | 0,5039 | 0,5994 |
| BM18241 | 0,6767 | 0,6299 | 0,6102 | 0,6454 | 0,6675 | 0,6681 | 0,6675 |
| CSR2471 | 0,7139 | 0,6299 | 0,7716 | 0,5812 | 0,5025 | 0,7508 | 0,6549 |
| CSSM661 | 0,7375 | 0,5112 | 0,3648 | 0,7716 | 0,8296 | 0,7255 | 0,7456 |
| ILSTS 0111 | 0,7667 | 0,3047 | 0,642 | 0,7446 | 0,5766 | 0,5995 | 0,5474 |
| MAF651 | 0,6934 | 0,3589 | 0,7014 | 0,6454 | 0,6874 | 0,4916 | 0,6414 |
| SPS1151 | 0,7142 | 0,5547 | 0,5812 | 0,7031 | 0,6756 | 0,7281 | 0,6675 |
| TGLA1221 | 0,8173 | 0,375 | 0,7716 | 0,6454 | 0,7014 | 0,6511 | 0,5994 |
| BM65261 | 0,6796 | 0,7861 | 0,4102 | 0,5478 | 0,692 | 0,6999 | 0,7261 |
| HSC1 | 0,7857 | 0,7861 | 0,7716 | 0,7446 | 0,5524 | 0,7889 | 0,73 |
| McM5271 | 0,7443 | 0,5112 | 0,6454 | 0,6756 | 0,7584 | 0,7188 | 0,4491 |
| OarAE01491 | 0,4546 | 0,5547 | 0,3648 | 0,6454 | 0,368 | 0,6593 | 0,3457 |
| OarCP341 | 0,6844 | 0,6299 | 0,6454 | 0,4662 | 0,7204 | 0,5867 | 0,7031 |
| OarCP491 | 0,8645 | 0,5815 | 0,8196 | 0,8196 | 0,8137 | 0,7292 | 0,8156 |
| OarFCB3041 | 0,5663 | 0,7119 | 0,7204 | 0,7014 | 0,5812 | 0,5594 | 0,6261 |
| RM0061 | 0,4598 | 0,605 | 0,375 | 0,6102 | 0,476 | 0,4523 | 0,5874 |
| D5S21 | 0,5477 | 0,4683 | 0,3648 | 0,3457 | 0,5045 | 0,4889 | 0,4491 |
| MAF2091 | 0,7413 | 0,5244 | 0,6102 | 0,6918 | 0,8296 | 0,4992 | 0,5874 |
| MAF2141 | 0,5474 | 0,3457 | 0,4662 | 0,4102 | 0,5786 | 0,3371 | 0,375 |
| OarFCB201 | 0,8195 | 0,3589 | 0,7978 | 0,57 | 0,68 | 0,7112 | 0,7656 |
| Promedio | 0,6815 | 0,537 | 0,592 | 0,632 | 0,641 | 0,6175 | 0,614 |

En la tabla II se observan los valores del Contenido de Información Polimórfica (PIC) por marcador y por población utilizado. Sobresalen los marcadores microsatélites *OarCP491* y *OarFCB201* por ser los marcadores con valores elevados que se repiten en más de una población diferente como ser la población Acriollado, Dorper, Santa Inés, Hampshire y Tipo Texel, para el primero y, para el segundo las poblaciones Acriollado, Dorper y Tipo Texel. Así también el microsatélite que se repite en más de una población con valores menores, como ser el *MAF2141* en las poblaciones Corriedale, Santa Inés, Población A y Tipo Texel; el microsatélite

RM0061 en las poblaciones Acriollada, Dorper, Hampshire y Población A, y por último el microsatélite OarAE011491 en las poblaciones Acriollada, Dorper, Hampshire y Tipo Texel. Por tanto el microsatélite *ILSTS 0111* se mostró muy poco informativo con 0,3047 en la población Corriedale, para la Población A el microsatélite que se mostró muy poco informativo es el *MAF2141* con 0,3371 por lo que, dichos microsatélites son muy pocos representativos. Marmi et al. (2007), obtuvieron valores promedios de PIC superiores a 0,5, estudiando 3.385 muestras de ovejas explotadas en la península Ibérica, utilizando un panel de 14 microsatélites. Por otra parte López (2004), en estudios realizados de la diversidad genética de razas de ovinos Mexicanos mediante el uso de marcadores moleculares, utilizando un panel de 6 microsatélites, encontró valores de PIC inferiores a 0,70; a excepción de MAF36 en la población Dorper y valores superiores a 0,80 en los microsatélites INRA23 y TGAL53 para la población Dorper, así también valores de PIC=0 en el microsatélite INRA37.

Conclusiones

La población acriollada presentó el mayor número de alelos, seguida de la población A (nativa) y la raza Hampshire, y el menor número alélico fue encontrado en la población Corriedale. En la población Santa Inés se encontró mayor heterocigosis, y la menor heterocigosis fue obtenida en el grupo denominada Población A. Los microsatélites que fueron más informativos y dieron buena consistencia al estudio son, HSC1, OarCP491, OarFCB201, siendo los microsatélites menos informativo los marcadores, OarAEO1491 y RM0061. Los ovinos agrupados dentro la Población Acriollada presentaron buena variabilidad genética con respecto a la población Corriedale, que mostraron menos diversidad en su formación genética según los indicadores evaluados, lo cual presume que existe una buena variabilidad genética entre los ovinos con características criollas criados en el departamento de Ñeembucu, aceptándose la posibilidad que pueden constituirse en recursos zoogenéticos locales con importante capacidad de adaptación a la zona húmedales del Paraguay.

Bibliografía

- Botstein, D.; White, R.; Skolnich, M.; Davis, R. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics* (US). 32 : 324-331
- Ginja, C. 2002. Identificação de raças bovinas portuguesas a través da utilização de marcadores moleculares. Tesis (Maestrado). Vila Real, (PT): Universidad de Tras-os-Montes e Alto Douro. 145 p.
- Martinez, R. 2008. Caracterização genética do gado bovino Pampa chaqueño do Paraguai utilizando marcadores microsatélites. Tesis (Doutor). PERNAMBUCO, BR : casa editora UFRPE (Universidad Federal Rural de Pernambuco). p.143.
- Martinez, R; Benitez, D.2010. Biodiversidad Ovina Iberoamericana. caracterización y uso sustentable : servicio de publicación , Universidad de Cordoba España P 480.
- Moazami-Goudarzi, K.; Vaiman, K.; Mercier, D.; Grohs, C.; Furet, J; Leveziel, H.; Martin, P. 1994. Analysis of genetic diversity in French cattle breeds by the use of microsatellite – preliminary - results. *Genetics Selection Evolution* (GB). 26: 155-165.
- Nei, M. 1975. *Molecular population genetics and evolution*, North – Holland, Amsterdam and New York (NY).