

Estado actual y perspectivas futuras de la genómica en ganado para carne

Ings. Agrs. O. Ravagnolo, I. Aguilar, G. Ciappesoni, F. Montossi

Programa de Carne y Lana, INIA

Introducción

La selección basada en valores de cría (DEPs o EPDs) ha sido muy exitosa en tanto se ha logrado obtener importantes progreso genético en las características seleccionadas. El énfasis de la mejora genética se ha centrado principalmente en características de fácil medición y con heredabilidad media a alta, donde la probabilidad de lograr progreso genético es mayor.

Hoy en día se cuenta a nivel nacional en ganado de carne, como también sucede en el contexto mundial, con evaluaciones genéticas establecidas que proveen información objetiva del merito genético para la selección de reproductores. Existen a su vez evaluaciones genéticas que involucran varios países como la Evaluación Genética Panamericana de la Raza Hereford de la que Uruguay participa.

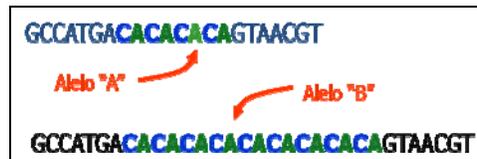
La mayoría de las características relevantes para la producción de carnes son características determinadas por cientos o miles de genes que tienen un efecto individual de pequeña magnitud. El progreso genético obtenido se logra desconociendo la acción específica de cada uno de los genes responsables de las variaciones genéticas en las características de interés. La evaluación genética intenta identificar los animales superiores genéticamente. El conocimiento más detallado de la acción de los genes particulares nos permitirá incrementar los progresos genéticos logrados. La información obtenida a través de herramientas moleculares, en combinación con las otras herramientas de mejora genética, permitirá importantes avances en nuevas áreas, los cuales se intentan resumir a continuación.

Uso de información molecular para mejoramiento genético.

Confirmación de Paternidad.

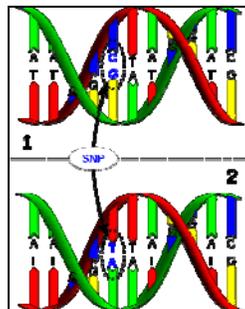
En la actualidad, es posible verificar si un toro es padre de determinado ternero con un altísimo nivel de precisión. Esta herramienta ha resultado sumamente útil para las evaluaciones genéticas, como las existentes a nivel nacional, que se basan tanto en la relación de parentesco entre los animales como en la información productivas de los mismos. A nivel nacional existen varios desarrollos para poder excluir padres tanto en bovinos como ovinos (Kit Bovino y Kit Ovino). Estos se basan en el uso de unos 18 o 20 microsatélites (SSR o STR), éstos son repeticiones de una misma secuencia de entre 1 y 6 nucleótidos. Tienen la ventaja de ser muy polimórficos (diferentes animales tienen un número diferente de repetición de la misma secuencia). A través del uso de los microsatélites es posible llegar a un 97 % de seguridad al excluir un animal como padre o madre de otro.

Figura 1. Diagrama de un microsatélite



En los últimos años, con el desarrollo de los equipos de análisis genético, se ha comenzado a hacer éste análisis a través de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, *del ingles single nucleotide polymorphisms*). Un polimorfismo de un solo nucleótido es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base (Adenina, Timina, Citosina o Guanina) de la secuencia del genoma. Para el caso de las pruebas de paternidad, se utilizan más de 100 SNP, lográndose aun mayores precisiones que las obtenidas con los test basados en microsatelites.

Figura 2. Diagrama de un SNP



Detección de Enfermedades Hereditarias

A nivel tanto nacional como internacional se han descrito un número importante de enfermedades hereditarias para todas las razas productivas. La posibilidad de disponer de métodos que nos permitan detectar a los animales portadores de éstas enfermedades nos permitirá disminuir drásticamente la incidencia de éstas en las poblaciones. Ejemplos de enfermedades cuyo diagnóstico se pueden hacer a través de genética molecular son: Epidermolisis bullosa, Cardiomiopatía de pelo crespo, Mioclonía congénita (MSUD-ICM), alfa mannosidosis, citrulinemia, BLAD. A excepción de la cardiomiopatía de pelo crespo, el resto de las enumeradas se pueden analizar hoy en la Unidad de Biotecnología del INIA. Al igual que en el caso de las pruebas de paternidad, la mayoría de las técnicas de detección se desarrollaron inicialmente con microsatélites, pero se están comenzando a realizar a través de SNP. A lo largo de los años, se han detectado varios padres importantes que han resultado ser portadores de alguna enfermedad hereditaria. El disponer de estas pruebas nos permite eliminar portadores previo a su difusión en la población.

Selección Asistida por Genes o Marcadores

Un gen es una región del ADN que determina y transmite la característica hereditaria de padres a hijos; en tanto que un marcador molecular es una región del ADN que por su

proximidad física con los genes aporta información sobre la expresión de la característica. A lo largo de los años se ha puesto mucho énfasis en encontrar genes y/o marcadores que tengan un efecto sobre la característica de interés. En la mayoría de los casos, su uso se realiza en forma combinada con los DEPs, es decir primero se obtienen los DEPs para las características de interés y luego se le agrega la información proveniente del marcador o del gen.

Si bien las características productivas están determinadas por una cantidad muy elevada de genes, estos estudios se basaban en encontrar aquellos genes o regiones de los cromosomas asociadas a marcadores que tuvieran un efecto más significativo sobre alguna de las características analizadas... Existen algunos ejemplos de genes que han sido asociados en el contexto internacional a características productivas como ser la Resistencia/Susceptibilidad al Scrapie asociada al gen de la proteína prion (PrP), Calpaína y la Calpastatína asociados a la terneza, el IGF-1 asociado al consumo residual, etc.

Un aspecto muy relevante después de la identificación de un gen o región de un cromosoma asociado la característica analizada es la validación del hallazgo en poblaciones independientes. En programas de selección asistida por marcadores, la validación es particularmente importante cuando los marcadores o genes han sido identificados en otras condiciones, razas, poblaciones o sistemas de producción. Es posible que resultados validos y precisos sobre marcadores moleculares o genes en las poblaciones donde fueran identificados no sean transferibles a otras poblaciones.

Algunos de los marcadores y genes encontrados han sido incluidos en los test comerciales, como el GeneStar e Igenity Profile. Estudios de validación de los genes y marcadores incluidos en éstos paquetes han mostrado que algunos de ellos tienen efecto significativo sobre otras poblaciones y otros no según estudios realizados en EEUU (NBCEC, del inglés National Beef Cattle Evaluation Consortium, Van Eenennaam et al., 2007) y en Australia (Johnston y Graser, 2010).

Por ejemplo, los marcadores de Igenity para Terneza han sido validados en un trabajo que involucró 1354 animales Bos Taurus, donde se verifico una diferencia significativa entre animales. El mismo panel no tuvo efecto significativo sobre una población de validación de Bos Indicus.

Por otro lado, los resultados de validaciones para eficiencia de consumo usando el panel correspondiente de Igenity reportan diferencias según los estudios de validación. En la página web de la NBCEC se muestran 6 estudios de validación, 3 de ellos con efectos significativos y 3 con efecto no significativo. A su vez, para el caso de las poblaciones Angus, se reporta una asociación no significativa y en el sentido inverso al efecto en las otras poblaciones.

Similares estudios han sido realizado para los paneles de Pfizer (GeneStar) y se están comenzando a hacer para los de MMI genomics (Tru-Marbling y Tru-Tenderness).

Los estudios de validación permiten también obtener otra información relevante que es la magnitud del efecto. Aun si el efecto de un test comercial es validado en las condiciones y razas

donde va a ser utilizado puede ser que el efecto del mismo sobre la característica no sea suficientemente relevante como para justificar su uso en la selección de los toros.

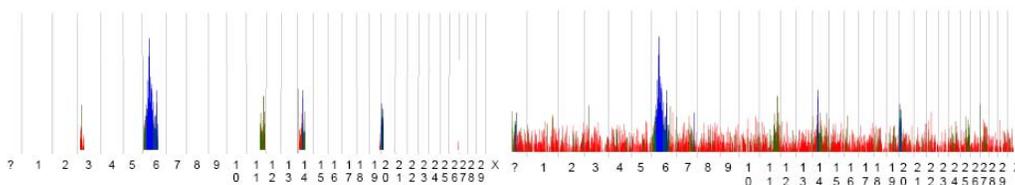
Al día de hoy la incorporación de información obtenida en base a pocos marcadores genéticos a los programa de mejora genética ha sido de limitada aplicación.

Selección genómica

En los últimos años, y gracias a los grandes avances en la capacidad de análisis de los secuenciadores (equipos utilizados en la determinación del genotipo en base a la muestra de ADN), se ha evolucionado en el uso de paneles de un solo gen o un grupo limitado de marcadores hacia paneles de un número siempre creciente de marcadores. Hace un par de años, se dio un paso importante de cientos o unos miles de SNP analizados a un panel de 50 000 SNP (50k). Actualmente la comunidad internacional está a la espera del lanzamiento paneles de 500000 (500k) por parte de Illumina y de Affymetrix, dos compañías que lideran esta tipo de innovación.

La selección sobre todo el genoma, en inglés Whole Genome Selection (WGS) implica el uso de un número muy elevado de marcadores que se encuentran distribuidos sobre todo el genoma. Es en realidad una forma más de selección asistida por marcadores, pero implícitamente trae consigo el concepto del modelo infinitesimal. Los genes que afectan la mayoría de las características de relevancia económica están distribuidos sobre todo el genoma, donde relativamente pocos marcadores tienen un efecto grande y muchos un efecto menor sobre las características. La selección asistida por marcadores tradicional se focalizaba principalmente en las regiones que se estaba relativamente seguros que influyen cierta característica y dejaba sin utilizar la mayoría de la variación genética.

Figura 3. Diferencia entre MAS tradicional y selección sobre todo el genoma.



La figura 3 trata de mostrar como el MAS tradicional se centraba en pocos marcadores de gran efecto mientras que WGS intenta de capturar todas las variaciones genéticas pero poniendo más énfasis en aquellas regiones de efecto mayor y menos ambigua (se muestra el efecto de los SNPs a lo largo de todos los cromosomas (cada valor en el eje x se refiere a un cromosoma).

La selección genómica utiliza información de miles de SNP, en la actualidad usando un chip de 50 000 (50 k) SNP para predecir el valor de cría genómico o DEP genómico (GEPD en ingles). El valor genómico de un individuo es la suma de los efectos estimados para cada unos los miles de SNPs a través de todo el genoma. Es similar a los paneles de varios marcadores disponibles en el mercado, pero con una densidad de marcadores mucho mayor. Es de esperar que ésta densidad vaya en aumento conforme se siga desarrollando los equipos de laboratorio.

Expresión de la información genómica

Existen varias modalidades de expresión de la información genómica. Cuando se disponía de pocos marcadores o genes, simplemente se informaba si tenía el alelo favorable o no. Esto no presentaba grandes dificultades hasta que se comenzó a incorporar el resultado de varios marcadores o SNPs. Luego y en la medida en que se fueron incorporando un mayor número de marcadores se comenzó a presentar los resultados en la unidad de la característica, en expresiones similares al DEP o en un índice. Esto ha generado confusiones a nivel de los consumidores, las cuales se han incrementado cuando se ha encontrado conflictos aparentes entre los DEPs provenientes de los análisis genéticos y los DEPs provenientes de las evaluaciones genéticas poblacionales tradicionales. La alternativa más atractiva para evitar y por ende facilitar el uso tanto de los DEPs tradicionales como los DEPs genómicos es el de combinar ambos datos en uno solo. Por otro lado, en las poblaciones bajo control no todos los animales serán genotipados.

Es importante destacar que el área de la selección genómica está en un intenso proceso de investigación en todas las especies. La comunidad científica y comercial se encuentra destinando la mayor parte de sus esfuerzos relacionados al mejoramiento genético a éste tema. Por ejemplo, en el 9no congreso mundial de genética aplicada a la producción animal (WCGALP, 2010) 276 artículos de los 846 presentados fueron específicamente sobre selección genómica. Es decir estamos en pleno proceso de creación tanto a nivel de conocimiento como de generación de bases de datos y flujo de información comercial.

Los mayores desafíos de la selección genómica

El desafío sigue siendo el estimar correctamente el efecto de los SNPs, con la diferencia de que ahora hay cientos de miles de marcadores a estimar simultáneamente. Debido a esto se observa a nivel mundial un gran énfasis en la investigación y desarrollo de herramientas estadísticas que permiten la estimación de dichos efectos.

Otro desafío importante, y muy probablemente el que sea más difícil de superar, es el disponer de poblaciones de un gran número de animales con genotipos e información ya sea DEPs o de fenotipos de interés (carcasa, eficiencia de conversión, calidad, reproducción etc.). Hace unos años, se estimaba que un tamaño adecuado de éstas poblaciones rondaban los 600 a 800 animales en el caso de bovinos de carne. Hoy se está hablando de miles, e inclusive en esos casos es indispensable realizar validaciones en otras poblaciones (es decir, no se puede usar la misma población con la que se estimaron los efectos, para ver si ellos funcionan o no). En este sentido, en los estudios de selección genómica se utilizan poblaciones de entrenamiento (sobre las cuales se estiman los efectos de los SNPs) y de poblaciones de validación (sobre las cuales se verifican los efectos estimados en la población de entrenamiento). A su vez, se ha constatado que los efectos estimados en poblaciones de una raza o cruce no se validan necesariamente en otra raza, por lo que es necesario validarlos en una misma raza y en el mismo ambiente (o similar).

El costo del genotipado en sí es una limitante para poder tener grandes poblaciones, pero empieza a ser la limitante mayor el disponer de animales con la información valiosa sobre la cual

estudiar los efectos. En caso de que sean los DEPs, es necesario contar con un número importante de padres evaluados con muchos hijos, lo cual no siempre es posible, dependiendo del tamaño de la población. En el caso de características que no tiene DEPs será necesario tener la información sobre las características de interés (por ejemplo peso de faena, marmóreo, etc) así como el genotipado de los animales. Estas dimensiones significan un gran desafío para la mayoría de las razas por lo que se están armando cooperaciones entre varios países para así poder acceder a mas información.

Otro desafío es la organización y publicación de la información; para lo cual se han visto diferentes alternativas.

En el 2009, el el Departamanto de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) empezó a utilizar en forma oficial la informacion genómica en las evaluaciones genética del ganado Holstein, publicando en forma combinada los valores genéticos tradicionales con los valores genómicos en base a los efectos estimados de los SNPs (Van Raden, 2009). El USDA centraliza toda la información de los análisis genómicos de los animales, de cada SNP para cada uno de los animales (financió una gran parte de la base de datos disponible en la actualidad). Usando los valores genéticos de toros probados (exigiendo un alto numero de progenie), expresados como valores de cría deregresados (para poder eliminar el efecto promedio de los padres), se estima el efecto de los cada uno de los SNPs. Luego, se predice a partir de los SNP el valor genómico el cual es combinado con el valor de cría tradicional. En el caso de los los toritos jóvenes, los cuales no disponen de informacion productiva de sus hijas, el uso de la valores de cría genómicos incrementa la precision de los valores de cría en un 23% mas que la obtenida usando solamente el valor de cría estimado en base al promedio de sus padres (tradicional), además de reducir el intervalo generacional. Originariamente, se sugería realizar la estimación de los efectos de los SNPs, y luego utilizarlos para predecir valores genómicos durante varias generaciones, sin volver a reestimarlos, pero diferentes estudios han demostrado la necesidad de reestimar los efectos de los SNPs rutinariamente. En este sentido, las evaluaciones genéticas llevadas a cabo por el USDA vuelve a estimar los efectos de los SNPs en cada una de las "corridas". En el caso de la evaluación genética de Holstein EEUU no se ha estado usando información de paneles reducidos ni valores de paneles interpretados por terceros. En la actualidad se esta investigando el uso de un panel reducido (3K) para poder imputar SNPs en el panel de 50k. La metodología desarrollada por el USDA implica varios pasos: evaluación genética tradicional, obtención de pseudo características (valores de cría deregresados), estimacion de los efectos de los SNPs, y combinación de los valores de cría tradicionales con los genómicos. Otras alternativas que se están desarrollando integran todos estos pasos en un único paso, proceso llamado en "un solo paso" o en ingles Single-Step (Aguilar et. al. 2010) que permitiría obtener directamente los valores genéticos combinados. En esta metodología los efectos de los SNPs se "reestiman" a través del uso de una matriz de relaciones genómicas combinadas con la información de parentesco en base a los registros de pedigrí.

En el 2010, la sociedad de criadores Aberdeen Angus de EEUU largó al mercado los llamados Enhanced EPDs o DEPs mejorados. En este caso, Angus Genetics Inc (AGI), una filial de la sociedad de criadores ha entablado una colaboración con Merial y han desarrollado un panel reducido a partir de información proveniente de análisis del chip de 50 k SNPs. Es decir,

han genotipado un número importante de animales con el chip de 50 000 SNPs, luego han analizado ésta información y seleccionado los SNPs que dieron mayores efectos sobre un conjunto de características de interés y han elaborado un panel de unos pocos marcadores, de menor costo. El criador envía su muestra a AGI (filial de la sociedad), ésta lo ingresa como registro y envía la muestra a analizar a Igenity, la cual envía el perfil (es decir interpreta el genotipo) a AGI la cual publica bianualmente DEPs(mejorados con la información genómica cuando existe) para las características con evaluación genética y puntajes para las características adicionales.

Consideraciones finales

En la medida que se vayan logrando mayores poblaciones de entrenamiento seguramente aparecerán otras alternativas de organización entre los diferentes actores. Sin embargo es importante destacar la necesidad de conocer los procesos de validación sobre los que las diferentes alternativas se basan.

Para poder hacer uso de las potencialidades de la selección genómica es importante mantener la acumulación de información productiva relevante para continuamente poder obtener mejores estimadores de los SNPs. A tales efectos es necesario asegurarse el disponer de los SNPs propios de cada muestra y no solamente el perfil o la traducción en un único valor por un lado y por otro lado una estrategia de asegurarse la mayor cantidad de información sobre las características productivas de interés. En el caso de nuestro país, tenemos una oportunidad excelente dado la existencia de un sistema generalizado de trazabilidad así como el registro continuo de información de interés productivo a través de las cajas negra en conjunción con los programas de evaluaciones genéticas poblacionales y la actual formación de un banco de ADN.

Literatura citada

- Aguilar, I., I. Misztal, D. L. Johnson, A. Legarra, S. Tsuruta, and T. J. Lawlor. 2010. Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. *J. Dairy Sci.* 93:743-752.
- Garrick, D. J. 2010. The nature, scope and impact of some whole genome analysis in Beef Cattle. WCGALP 2010.
- Goddard, M.E, B.J.Hayes and T.H.E meuwissen, 2010. Genomic Selection in Farm Animal Species- Lessons Learnt and Future Perspectives. Proc. 9th Wrld Congr. Genet. Appl. Livest. Prod. Leipzig.
- Johnston, D. L. and Graser, H. U 2010. Estimated gene frequencies of GeneSTAR markers and their size of effects on meat tenderness, marbling, and feed efficiency in temperate and tropical beef cattle breeds across a range of production systems. *J. Anim. Sci.* 2010. 88:1917-1935
- National beef cattle evaluation consortium. <http://www.ansci.cornell.edu/nbcec/ucdavis/Overview.htm>
- Thallman, Marc, 2009. Whole Genome Selection. http://animalscience.ucdavis.edu/animalbiotech/Outreach/Whole_Genome_Selection.pdf consultado el 14/09/2010.
- Van Eenennaam, A.L., Li, J, Thallman, R.M., Quaas, R.L., Dikeman, M.E., Gill, C.A., Franke, D.E. and Thomas, M.G. 2007: Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. *Journal of Animal Science* 85, 891-900.
- VanRaden, P. M., C. P. Van Tassell, G. R. Wiggans, T. S. Sonstegard, R. D. Schnabel, J. F. Taylor, and F. S. Schenkel. 2009. Invited review: Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. *J. Dairy Sci.* 92:16–24