

NOTABREVE

CONTROL GENEALÓGICO EN LA RAZA MURCIANO-GRANADINA MEDIANTE EL USO DE MICROSATÉLITES DEL ADN

GENEALOGICAL TESTING CONTROL IN MURCIANO-GRANADINA GOAT BREED USING DNAMICROSATELLITES

Delgado, J.V.¹, J.M. León¹, A. Martínez¹, J. Pleguezuelos² y C. Barba³

¹Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. 14014 Córdoba. España.

²Asociación Nacional de Criadores de Caprino de Raza Murciano-Granadina. Caserío de San Pedro, s/n. 18820 Albolote (Granada). España.

³Sanidad y servicios ganaderos, S.A. Departamento de Producción Animal. Universidad de Córdoba. 14014 Córdoba. España.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Genealogía. Inseminación artificial. Paternidad.

ADDITIONAL KEYWORDS

Genealogy. Artificial insemination. Paternity.

RESUMEN

Uno de los mayores frenos actuales para el desarrollo de los esquemas de selección en el caprino es el control genealógico, debido a los peculiares sistemas de explotación existentes, especialmente en España, en los que se dispone de razas poliéstricas y se acostumbra a basar las cubriciones en la monta natural empleando varios machos por lote. Con estas premisas y como medida de base en el Esquema de Selección de la raza caprina Murciano Granadina se abordó una verificación de la eficacia de las declaraciones de cubriciones y nacimientos en los tres núcleos de control integrados en la Asociación Nacional de Criadores de Caprino de raza Murciano Granadina entre los años 2004 y 2006, utilizando para ello marcadores moleculares (microsatélites del ADN), tanto de los animales resultantes de la monta natural (M.N.) como de la inseminación artificial (I.A.). Los resultados de esta evaluación arrojaron para el año 2004 un 14,28% de maternidades incompatibles en I.A. y un 10,5% de error en asignación tanto de padres como de madres para animales de M.N. En el año 2005, para animales de I.A. se detectó un 11,11% de incompatibilidades de padre, en tanto que en M.N., se observaron errores de asignación de padre del 5,80% y del 8,70% de madres. En los análisis de 2006 se obtuvieron un 10,2% de maternidades y 4,08% de paternidades incompatibles en I.A., para M.N. se obtuvieron un 13,51% de madres erróneamente asignadas y

un 35,13% para el caso de las paternidades.

SUMMARY

One of bigger obstacles at present time for the development of the selection schemes on goats is the genealogical control, due to the peculiar management systems of dairy goats, especially in Spain, with polyestric breeds and the frequent practice of natural mating using several males for lot. Considering these facts, and as a basic measure in selection scheme of Murciano Granadina goat, a verification of the effectiveness of the fertilization and birth declarations in the three control nuclei integrated in the National Breeders Association of Murciano Granadina goat was done during the years 2004 to 2006. Molecular markers (microsatellites of DNA) were used for animals resulting of both natural mating and artificial insemination. Results show, in 2004, 14.28% of maternal incompatibilities in A.I. and a 10.5% error in parents assignment was observed in N.M. animals. For 2005, the father incompatibilities were 11.11% in A.I., and there were 5.80 and 8.70% of asignation errors for fathers and mothers respectively in N.M. The analyses done in 2006 showed 10.2 and 4.08% of incompatible maternities or paternities for A.I., and 13.51% of mothers and 35.13% of fathers were erroneously assigned in N.M.

Recibido: 9-8-08. Aceptado: 16-1-09.

Arch. Zootec. 58 (Supl. 1): 553-556. 2009.

INTRODUCCIÓN

El control genealógico de los individuos es básico e incide de distintas formas y a distintos niveles en las producciones animales, generando en la mayoría de las ocasiones una reducción en el progreso genético de las mismas cuando su registro no es adecuado (Dodds *et al.*, 2007). En este contexto el Esquema de Selección de la raza caprina Murciano Granadina establece como uno de los pilares fundamentales para su adecuado desarrollo la contrastación de la genealogía de los animales que participan en él y es obvio que las mejores técnicas existentes para ello son las basadas en polimorfismos de ADN y, especialmente, los marcadores microsatélites. Para ello se propuso la utilización de una batería de microsatélites recomendados internacionalmente, con la finalidad de testar por muestreo, la eficacia del control genealógico de campo tanto en los animales nacidos de inseminación artificial como de monta natural entre los años 2004 y 2006. Los resultados obtenidos en este análisis permitirán disponer de datos fehacientes sobre el manejo de las explotaciones y de la eficiencia de las asignaciones de progenitores.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la verificación genealógica mediante controles de filiación, desarrollada en el Laboratorio de Genética Molecular Aplicada UCO-Diputación de Córdoba, se dispuso de muestras de sangre como material biológico, cuyo ADN fue extraído mediante el Kit BLOODCLEAN de purificación de ADN (BIOTOOLS. Biotechnological & Medical Laboratories, S.A. Madrid, España) siguiendo las indicaciones del fabricante para este kit. Para la realización de los controles de filiación y partiendo de los resultados previos obtenidos (Martínez *et al.*, 2005), se diseñan dos paneles de microsatélites, uno básico con 11 microsatélites y otro secundario con 8 más (**tabla I**).

Los microsatélites se amplificaron mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) según la metodología de Martínez *et al.* (2000). Así mismo la separación de los fragmentos obtenidos mediante la PCR se sometieron a una electroforesis en gel de poliacrilamida en un secuenciador automático ABI377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). El análisis de los fragmentos y la tipificación alélica se realizó mediante los programas informáticos Genescan Analysis 3.1.2 y Genotyper 2.5, respectivamente. Los controles de filiación de los animales se realizaron comparando los genotipos del hijo con los de sus progenitores. La evaluación de la idoneidad de estos microsatélites, para su empleo en los controles de filiación (Jiménez, 2003), se ha testado mediante el cálculo de la probabilidad de exclusión *a priori* (PE) de cada uno de ellos mediante la fórmula de Jamieson (1994) y la probabilidad de exclusión combinada *a priori* (PEC) para un conjunto de sistemas mediante la fórmula de Huguot (1988).

Para ello se realizaron durante el año 2004 un total de 73 análisis completos de control de filiación correspondientes a ani-

Tabla I. Panel básico y secundario de microsatélites para controles de paternidad en la raza Murciano-Granadina. (Basic and alternative panel of microsatellites for genealogical control in the Murciano-Granadina breed).

Panel básico	Panel secundario
BM1329	MAF65
BM1818	CSRM60
BM6506	OarFCB304
BM8125	OarFCB11
CSRD247	ILSTS011
HSC	McM527
INRA63	ETH10
MAF209	SPS115
MM12	
OarFCB48	
SRCRSP8	

CONTROL GENEALÓGICO EN MURCIANO-GRANADINAS

males de 14 ganaderías, de los cuales 35 pertenecían a animales procedentes de inseminación artificial (I.A.) y 38 de la monta natural (M.N.) y que requirieron de un total de 138 contrastaciones, 65 para la asignación de paternidades y 73 para maternidades. En 2005 se efectuaron 105 controles de filiación en 16 ganaderías, de los cuales 36 se efectuaron sobre animales de I.A. y 69 de M.N.; con un total de 166 contrastaciones, 105 para las determinaciones de paternidades y 61 para maternidades. En el año 2006 se realizaron 123 análisis completos de control de filiación correspondientes a animales de 12 ganaderías, de los cuales 49 pertenecían a animales procedentes de I.A. y 74 de la M.N. y que requirieron de un total de 340 contrastaciones, 191 para la asignación de paternidades y 149 para maternidades.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Es destacable, en primera instancia, el elevado número de alelos detectados para los microsatélites MM12, HSC y BM1818, siendo superior a 4 para todos los marcadores del panel primario. La heterocigosis individual de estos marcadores osciló entre 0,71 para el marcador SRCRSP8 y 0,85 para el HSC, hecho que pone de manifiesto una

elevada variabilidad de alelos en la población a la vez que facilita el proceso de exclusión de paternidades. La probabilidad de exclusión combinada (PEC) mostrada por el panel básico (11 marcadores) fue de 0,99997 y la del panel básico más el secundario (19 marcadores) se elevó a 0,99999.

A la vista de los resultados obtenidos en los análisis de exclusión de paternidad realizados durante el año 2004, se obtuvo un 85,7% y un 79% de compatibilidades de padre y madre, para los animales nacidos de I.A. y M.N., respectivamente (**tabla II**).

De los análisis llevados a cabo durante el año 2005 (**tabla III**), puede destacarse como únicamente el 8,33 % de los animales de I.A. obtuvieron compatibilidad de padre y madre. Esta situación pone de manifiesto la necesidad de optimizar una técnica operativa para la determinación de la paternidad y maternidad *a posteriori* en animales de filiación dudosa mediante la utilización de una batería concreta de microsatélites del ADN como la empleada en el presente trabajo (Mata, 2001). Para los animales de M.N. resultó destacable como casi el 45% de los casos resultaron compatibles de padre y madre.

Los análisis llevados a cabo durante el año 2006 pusieron de manifiesto un 73,46%

Tabla II. Resultados de los análisis de control de filiación realizados en el año 2004. (Results of the genealogical controls developed during 2004).

	S	CCPM	CCP	CCM	CNC	CNCP	CNCM	T
IA m	15	-	-	-	-	-	1	16
h	15	-	-	-	-	-	4	19
MN m	30	-	-	-	3	4	4	37
h	-	-	-	-	1	-	-	1
T	60				4	9	9	73

Sexo: S (m: machos; h: hembras); CC: Casos compatibles; P: Padre; M: Madre; CNC: Casos no compatibles; T: Total; IA: Inseminación artificial; MN: Monta natural.

Tabla III. Resultados de los análisis de control de filiación realizados en el año 2005. (Results of the genealogical controls developed during 2005).

	S	CCPM	CCP	CCM	CNC	CNCP	CNCM	T
IA m	3	10	-	-	2	-	-	15
h	-	18	1	-	2	-	-	21
MN m	13	2	8	2	3	-	-	28
h	18	9	2	5	1	6	6	41
T	34	39	11	7	8	6	6	105

Sexo: S (m: machos; h: hembras); CC: Casos compatibles; P: Padre; M: Madre; CNC: Casos no compatibles; T: Total; IA: Inseminación artificial; MN: Monta natural.

de casos compatibles de padre y madre en animales de I.A. y un 27,02 % para animales de M.N. (tabla IV).

En términos generales se observa una clara evaluación positiva en el número de controles de filiación efectuados a lo largo de los tres años de estudio, habiéndose experimentado un incremento del 41% entre 2004 y 2006.

CONCLUSIONES

La importancia de este trabajo no ha sido tanto la cantidad de pruebas o casos de exclusión que se han realizado, como sí, el introducir una dinámica de trabajo entre técnicos y ganaderos y hacer ver la importancia que tiene una correcta filiación y el apoyo que pueden ofrecer estas técnicas a la hora de obtener un mejor rendimiento a su trabajo. Se debe resaltar que se hace necesario un control riguroso de la genealogía en el caprino, ya que bajo las circunstancias actuales, mucha información incluida en los

Tabla IV. Resultados de los análisis de control de filiación realizados en el año 2006. (Results of the genealogical controls developed during 2006).

		S	CCPM	CCP	CCM	CNC	CNCP	CNCM	T
IA	m	20	3	-	-	1	-	-	24
	h	16	1	-	2	1	5	5	25
MN	m	17	3	-	1	7	1	1	29
	h	3	5	9	-	19	9	9	45
T		56	12	9	3	28	15	15	123

Sexo: S (m: machos; h: hembras); CC: Casos compatibles; P: Padre; M: Madre; CNC: Casos no compatibles; T: Total; IA: Inseminación artificial; MN: Monta natural.

libros genealógicos es incorrecta y por ello las matrices de parentesco incluyen mucha información inexacta con niveles de error muy por encima del 4% asumible para las evaluaciones genéticas.

BIBLIOGRAFÍA

- Dodds, K.G., J.C. McEwan and G.H. Davis. 2007. Integration of molecular and quantitative information in sheep and goat industry breeding programmes. *Small Ruminant Res.*, 70: 32-41.
- Huguet, E., A. Carracedo y M. Gené. 1988. Capítulo 14. Valoración médico-legal de la paternidad. En: Introducción a la investigación biológica de la paternidad. Ed. E. Huguet, A. Carracedo, M. Gené y Promociones y Publicaciones Universitarias, S.A. Barcelona.
- Jamieson, A. 1994. The effectiveness of using co-dominant polymorphic allelic series for (1) checking pedigrees and (2) distinguishing full-sib pair members. *Anim. Genet.*, 25: 37-44.
- Jiménez Gamero, I.C. 2003. Clonación de microsatélites en la especie caprina y su aplicación a test de paternidad. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
- Martínez, A.M., J.V. Delgado, A. Rodero and J.L. Vega-Pla. 2000. Genetic structure of the Iberian pig breed using microsatellites. *Anim. Genet.*, 31: 295-301.
- Martínez, A.M., J.L. Vega-Pla, J.M. Lozano, M.P. Carrera, J.M. Acosta y A. Cabello. 2005. Caracterización genética de la cabra Murciano-Granadina con microsatélites. *Arch. Zootec.*, 54: 327-331.
- Mata, J. 2001. Plan de mejora de la Agrupación Caprina Canaria. Desarrollo de la metodología para el control de la paternidad a través del manejo reproductivo. Tesis doctoral. Departamento de Genética. Universidad de Córdoba.