

# UTILIDAD DE LOS MICROSATÉLITES EN EL CONTROL DE PARENTESCO EN GANADO OVINO\*

J.J. ARRANZ, A. FTIRICH, C.D. TASCÓN, Y. BAYÓN y F. SAN PRIMITIVO  
Dpto. Producción Animal I, Universidad de León, 24071 León

## INTRODUCCIÓN

El control de la identidad y la genealogía de cada animal es una condición indispensable para garantizar una selección genética eficaz de los reproductores en cualquier programa de mejora. La estimación del valor genético de un animal se basa en la medición de diferentes valores fenotípicos, no sólo en los propios individuos, sino también en animales emparentados con ellos, ascendientes, descendientes y colaterales. Los errores en las genealogías, conducirán a errores en la evaluación de los reproductores, en consecuencia a un menor progreso genético.

Las cuestiones sobre identidad o paternidad biológica se han resuelto con la utilización de marcadores genéticos que deben reunir las siguientes características: presentar amplia variabilidad, seguir una herencia mendeliana sencilla, estar presentes en el animal de forma invariable desde el nacimiento y posibilidad de detección objetiva y sencilla. Clásicamente, estos marcadores se han puesto de manifiesto mediante técnicas inmunogenéticas (grupos sanguíneos) o electroforéticas (polimorfismos bioquímicos). A partir del desarrollo de la tecnología del ADN recombinante, en la década de los 80, se introdujeron los RFLPs y principalmente los "DNA fingerprints", de gran utilidad para la identificación individual y el control de parentesco tanto en el hombre (Jeffreys et al., 1985), como en los animales (Georges et al., 1988). Recientemente se ha evidenciado el polimorfismo de las secuencias simples repetidas de ADN denominadas "microsatélites" (Tautz et al. 1989; Crawford et al., 1990; Fries et al., 1990), que presentan alelos perfectamente identificables y con una variabilidad elevada. Su ventaja con respecto a los "DNA fingerprints" es la rapidez de identificación y la posibilidad de evidenciarse a partir de una pequeña cantidad de ADN. El objetivo del presente trabajo es evaluar la utilidad y eficacia de los microsatélites en el control de parentesco en ganado ovino.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para la obtención de las frecuencias génicas de cada marcador se han analizado un total de 84 sementales de raza Churra, todos ellos pertenecientes al programa de mejora aplicado por ANCHE.

\* Este trabajo ha sido financiado por la CICYT (proyecto AGF 93-0273).

El ADN genómico se ha obtenido a partir de esperma congelado, siguiendo el método de Sambrook et al. (1989). La amplificación mediante PCR se ha llevado a cabo según el procedimiento de Weber y May (1989). Los métodos específicos utilizados en cada microsatélite fueron los descritos por Buchanan et al. (1991) para el MAF4, Swarbrick et al. (1991) para el MAF64 y Montgomery et al. (1993) para OarAE101 y OarHH55. Los productos amplificados por PCR se separaron en geles de secuenciación utilizando la secuencia del fago M13mp18 como marcador.

La probabilidad de exclusión de paternidad ( $P_{En}$ ) y la probabilidad de distinción genotípica entre dos hermanos carnales ( $P_{Sn}$ ) para un locus con "n" alelos, se han calculado utilizando las fórmulas propuestas por Jamieson (1994). El porcentaje de exclusión conjunta se ha calculado mediante el procedimiento de Weiner et al. (1930).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presenta, para cada marcador, el contenido de información de cada polimorfismo (PIC), el número de alelos, el porcentaje de exclusión "a priori" y la probabilidad de distinción entre dos hermanos.

Tabla 1.

	PIC	Nº alelos	$P_{En}$	$P_{Sn}$
<b>MAF4</b>	0,835	18	83,57%	70,61%
<b>MAF64</b>	0,721	12	55,48%	60,32%
<b>OarAE101</b>	0,673	9	48,15%	57,56%
<b>OarHH55</b>	0,677	12	51,63%	56,95%

El marcador que presentó un mayor número de alelos, así como un mayor porcentaje de exclusión, fue el MAF4. El resto de los microsatélites ofrecen resultados similares a los obtenidos en los marcadores proteicos más eficaces en la resolución de paternidades mal asignadas. La probabilidad de exclusión combinada al utilizar los cuatro microsatélites es del 98,32%. Esta cifra indica el porcentaje de presuntos padres, falsamente imputados, cuya paternidad quedaría excluida en el diagnóstico laboratorial, al utilizar estos cuatro microsatélites. La eficacia de este tipo de marcadores es mucho más elevada que la que se puede obtener con los polimorfismos bioquímicos, ya que la utilización de ocho sistemas proporciona una probabilidad de exclusión próxima al 70% (Ordás y San Primitivo, 1982), mientras que utilizando únicamente cuatro microsatélites se pueden resolver un mayor número de paternidades dudosas.

La utilidad de este tipo de marcadores podría verse fácilmente incrementada, aumentando el número de microsatélites utilizados o eligiendo los que mayor grado de polimorfismo presentan en cada población. Las ventajas de los microsatélites, con respecto a los sistemas clásicos utilizados en el control de paternidad, son claras; ya que no es necesario mantener un grupo de animales como fuente de anticuerpos, caso de los grupos sanguíneos, poseen mayor eficacia que los polimorfismos bioquímicos y su detección es más económica y más rápida que en el caso de los "DNA fingerprints". Además, los costes de los análisis de los microsatélites pueden ser mejorados, al realizar coamplificación e identificación de dos o tres microsatélites simultáneamente.

La utilidad de un marcador en la exclusión de paternidad en animales domésticos puede verse reducida en los casos en los que exista una elevada endogamia en la explotación (Jamieson, 1994). El caso más claro sería la distinción como posible padre de un individuo entre dos hermanos carnales. Así el parámetro  $P_{Sn}$  indica la probabilidad de distinguir entre dos hermanos por cada marcador. El marcador más efectivo en este caso también es el MAF4. La probabilidad conjunta de los cuatro sistemas es del 97,98 %. La efectividad de los microsatélites en la resolución de problemas de paternidad dudosa es, por lo tanto, muy elevada y mucho mayor que la aportada por los polimorfismos bioquímicos, pudiendo aumentar la eficacia de los esquemas de selección implantados en ganado ovino.

## BIBLIOGRAFÍA

- BUCHANAN, F.C., SWARBRICK, P.A. y CRAWFORD, A.M. (1991). Ovine dinucleotide repeat polymorphism at the MAF4 locus. *Anim. Genet.*, **22**: 373.
- CRAWDFORD, A.M., BUCHANAN, F.C. y SWARBRICK, S.A. (1990). Ovine dinucleotide repeat polymorphism at the MAF18 locus. *Anim. Genet.*, **21**:433-434.
- FRIES, R. EGGEN, A. y STRAZINGER, G. (1990). The bovine genome contains polymorphic microsatellites. *Genomics*, **8**: 403-406.
- GEORGES, M., LEQUARRE, A.S. CASTELLI, M., HANSET, R. VASSART, G. (1988). DNA fingerprinting in domestic animals using four different minisatellite probes. *Cytogenet Cell Genet.*, **47**:127-131.
- 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** (Sup. 1): 37-44.
- JEFFREYS, A.J., BROOKFIELD, JFY y SEMENOFF, R., (1985). Positive identification of an immigration test case using human DNA fingerprints. *Nature*, **317**: 818-819.
- MONTGOMERY, G.W., CRAWFORD, A.M., PENTY, J.M., et al. (1993). The Booroola fecundity gene (FecB) is linked to markers from a region of human chromosome 4q. *Nat. Genet.*, **4**:410-414.
- ORDÁS, J.G. y SAN PRIMITIVO, F. (1982). Eficacia de 8 polimorfismos sanguíneos para la comprobación de parentesco en ganado ovino. *2n Congr. Genet. appli. LIVES. Prod.*, **8**: 707-710.
- SWARBRICK, P.A., BUCHANAN, F.C. y CRAWFORD, A.M. (1991). Ovine dinucleotide repeat polymorphism at the MAF64 locus. *Anim. Genet.*, **22**: 375.
- TAUTZ, D. (1989). Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.*, **17**: 6463-6471.
- WEBER, J.L. y MAY, P. (1989). Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.*, **44**: 388-396.
- WIENER, A.S., LEDERER, M. y POLAYES, S.H. (1930). Studies in isohemagglutination. IV. On the chances of proving non paternity; *J. Immunol.*, **19**: 259-262.