

## EVALUACIÓN DE UN PANEL DE SNP PARA EL CONTROL DE FILIACIÓN EN LA RAZA OVINA RIPOLLESA

Casellas<sup>1</sup>, J.

<sup>1</sup>Dep. Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona. joaquin.casellas@uab.cat

### INTRODUCCIÓN

Los sistemas productivos en extensivo y en semi-extensivo, muy habituales en el caso de las especies de pequeños rumiantes de aptitud cárnica, constituyen una opción muy interesante para el aprovechamiento de las zonas de producción más marginales, no aptas para el cultivo u otros tipos de ganadería. Dentro de este contexto, la raza ovina Ripollesa representa un claro ejemplo, distribuida mayoritariamente entre las provincias de Girona y Barcelona, y considerada como “en peligro de extinción” (Anónimo, 2012). Aunque esta raza dispone de su propia asociación de ganaderos desde el año 1987, y su libro genealógico se fundó en 1990 (Anónimo, 1990), no ha sido hasta recientemente que se ha implementado un programa de control de paternidades mediante el genotipado de marcadores de tipo SNP (*single nucleotide polymorphism*). Dado que el manejo reproductivo de la mayoría de rebaños se basa en un sistema de montas continuas con múltiples machos, la posibilidad de genotipar los animales y recuperar la información referente a la paternidad resultaba esencial para el correcto funcionamiento del libro genealógico de la raza. Para ello se desarrolló un primer panel de 48 SNP, rápidamente ampliado a 60, que sobre el papel debería funcionar de manera óptima con una probabilidad de exclusión paternal superior al 99,9% (Ferrando et al., 2012). No obstante, la eficacia de cualquier test de paternidad mediante el uso de marcadores genéticos acostumbra a estar a menudo supeditada a la correcta identificación de los progenitores potenciales de cada individuo. Es por ello que la disponibilidad de información adicional como la fecha de nacimiento de cada animal o el rebaño de procedencia puede marcar la diferencia entre el éxito y el fracaso al aplicar estas metodologías moleculares. Por esto, este trabajo se centra en evaluar el panel de SNP diseñado para el control de paternidades de la raza ovina Ripollesa, determinando su capacidad para discriminar el padre de cada individuo por sí mismo o al añadir información adicional sobre la edad o la procedencia geográfica de los animales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En la actualidad, el programa de mejora de la raza ovina Ripollesa incluye el genotipado de todos los animales de la reposición para los siguientes 60 marcadores SNP: CL635241, CZ920950, CZ920950, DU178311, DU200069, DU202116, DU206327, DU213735, DU216457, DU223894, DU225323, DU231335, DU232778, DU245849, DU247686, DU258149, DU260026, DU298844, DU301854, DU306244, DU308137, DU310703, DU310869, DU322055, DU325267, DU325612, DU326572, DU328870, DU329154, DU351298, DU364675, DU366451, DU370089, DU372397, DU380477, DU380983, DU385524, DU388321, DU407749, DU413994, DU414375, DU440765, DU452167, DU452456, DU458238, DU459083, DU459528, DU463532, DU463771, DU467879, DU470132, DU480434, DU492158, DU492516, DU492723, DU515326, DU524706, DU528988, DU529574 y EE784862. Estos genotipados se realizan mediante el sistema TaqMan® OpenArray® (Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, EUA) a partir del ADN extraído previamente de una muestra de sangre de cada animal, en la plataforma QuantStudio™ 12K Flex (Applied Biosystems) del Servicio Veterinario de Genética Molecular de la Universitat Autònoma de Barcelona (Bellaterra, Barcelona). Hasta la fecha se han genotipado un total de 4.068 individuos procedentes de 20 rebaños distintos. Para todos estos animales se disponía de información referente a su fecha de nacimiento, sexo, rebaño de origen y, en el caso de los machos reproductores, su fecha de baja. Una vez realizados los genotipados y para cada uno de los animales, se procedió a identificar todos los machos reproductores compatibles desde un punto de vista genético (se aceptó como máximo una incompatibilidad en los SNP), descartándose posteriormente todos aquellos que eran incompatibles debido a que pertenecían a otros rebaños, eran demasiado jóvenes o ya habían sido dados de baja del rebaño cinco meses antes del nacimiento del individuo en cuestión.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La probabilidad de exclusión de paternidad resulta fácilmente computable desde un punto de vista teórico a partir de las formulas desarrolladas por Jamieson (1994) y Jamieson y Taylor (1997). No obstante, la eficiencia real de cualquier test de paternidad no depende únicamente de esta probabilidad, sino también de la capacidad de identificar correctamente a los padres potenciales de cada individuo. De no ser así, la lista de candidatos puede verse engrosada artificialmente y dificultar sobremanera la identificación de un único padre compatible. De hecho, sin información adicional como la fecha de nacimiento de cada individuo, se pueden dar situaciones de difícil solución, como invertir las relaciones de padre e hijo o identificar todos los hijos de un individuo como padres potenciales del mismo durante el análisis.

Desde su implantación durante el año 2011, el Programa de Control de Paternidades de la raza ovina Ripollesa ha genotipado un total de 4.068 individuos, identificándose el padre en un 52,4% de los animales nacidos antes de 2011 y en un 91,4% de los animales nacidos entre los años 2011 y 2014. No obstante, estos porcentajes oscilaron de un rebaño a otro, del 0 al 100% para animales nacidos antes del 2011, y de 44,2% al 100% para los años 2011 a 2014. Resulta importante destacar que la bajada en la eficacia para los animales nacidos antes de 2011 se debía a que, en muchos casos, el padre ya había sido dado de baja del rebaño en el momento de empezar a recolectar las muestras de sangre, lo cual imposibilitaba su identificación una vez disponibles los genotipados. Por otro lado, los porcentajes anteriores se obtuvieron no solamente a partir de la información de los genotipados, sino también al determinar los padres potenciales de cada individuo en función de su rebaño de origen y su edad. De no tener en cuenta esta información, el éxito en las determinaciones de las paternidades caía en picado hasta valores inferiores al 10% para todos los animales, ya que en muchos casos aparecían dos o más padres compatibles (para algunos, más de 10 padres posibles).

En conjunto, estos resultados evidenciaron la utilidad de las pruebas de paternidad en pequeños rumiantes, aunque su eficiencia estaba condicionada a una correcta identificación de los progenitores potenciales de cada individuo. De no ser así, su implementación debería desaconsejarse.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anónimo. 1990. Diari Oficial de la Generalitat de Catalunya 1376: 5510-5511.
- Anónimo. 2012. Boletín Oficial del Estado 39: 13452-13455.
- Ferrando, A., Casellas, J., Jordana, J. 2012. VIII Congreso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animais, Évora, Portugal.
- Jamieson, A. 1994. Anim. Genet. 25 (supl. 1): 37-44.
- Jamieson, A., Taylor, S.C.S. 1997. Anim. Genet. 28: 397-400.

**Agradecimientos:** A la *Associació Nacional de Criadors d'Oví de Raça Ripollesa* (ANCRI, Monells, Girona) por la información proporcionada, tanto referente a los genotipados de su Programa de Control de Paternidades como a los registros de cada animal procedentes del Programa de Control de Rendimientos. Este trabajo deriva del proyecto de investigación RZ2011-00015-C03. El contrato de investigación de J. Casellas se enmarca dentro de programa "Ramón y Cajal" (referencia RYC-2009-04049).

**Tabla 1.** Resultados de identificación de paternidades para los veinte rebaños implicados en el Programa de Control de Paternidades de la raza ovina Ripollesa. Los porcentajes se refieren a animales compatibles con un único semental de la raza, excluyéndose individuos sin ningún padre posible en la base de datos o compatibles con más de un reproductor a la vez.

| Rebaño <sup>1</sup> | Animales testados | Porcentaje de detección de paternidad |                           |   |
|---------------------|-------------------|---------------------------------------|---------------------------|---|
|                     |                   | Nacimiento antes de 2011              | Nacimiento de 2011 a 2014 | Sin considerar rebaño y fecha de nacimiento |
| AB                  | 178               | 36,9% (103)                           | 94,7% (75)                | 14,4%                                       |
| AN                  | 380               | 47,2% (180)                           | 96,0% (200)               | 11,0%                                       |
| AS                  | 20                | 50,0% (2)                             | 83,3% (18)                | 5,4%  |
| BS                  | 426               | 58,9% (151)                           | 91,3% (275)               | 12,5%                                       |
| CA                  | 162               | 4,2% (24)                             | 96,4% (138)               | 12,6  |
| CG                  | 650               | 50,8% (264)                           | 95,3% (386)               | 9,1%  |
| GD                  | 40                | 87,5% (8)                             | 100,0% (32)               | 7,1%  |
| JC                  | 176               | 68,8% (64)                            | 98,2% (112)               | 9,8%  |
| JM                  | 182               | 22,7% (22)                            | 96,3% (160)               | 10,1%                                       |
| JX                  | 71                | 100,0% (3)                            | 70,6% (68)                | 15,0%                                       |
| LL                  | 48                | 20,0% (5)                             | 44,2% (43)                | 11,1%                                       |
| MR                  | 688               | 61,7% (230)                           | 90,6% (458)               | 8,3%  |
| PA                  | 205               | 52,1% (94)                            | 87,4% (111)               | 6,4%  |
| PL                  | 79                | 0,0% (6)                              | 61,6% (73)                | 10,5%                                       |
| QM                  | 19                | -                                     | 89,5% (19)                | 8,2%  |
| RB                  | 157               | 71,1% (90)                            | 100,0% (67)               | 9,4%  |
| TM                  | 52                | 65,8% (38)                            | 92,9% (14)                | 9,8%  |
| UA                  | 34                | 61,5% (13)                            | 100,0% (21)               | 9,8%  |
| UN                  | 226               | 48,7% (119)                           | 98,1% (107)               | 8,6%  |
| XF                  | 275               | 34,7% (72)                            | 91,6% (203)               | 10,7%                                       |
| <b>Global</b>       | <b>4.068</b>      | <b>52,4% (1.488)</b>                  | <b>91,4% (2.580)</b>      | <b>9,3%</b>                                 |

<sup>1</sup>Por razones de confidencialidad, los rebaños se identifican con el código interno de la asociación, sin detallar su nombre u ubicación geográfica.

### EVALUATION OF A SNP PANEL FOR PATERNITY TESTING IN THE RIPOLLESA SHEEP BREED

**ABSTRACT:** Paternity testing initiatives must be viewed as key tools for animal breeding programs under multiple-sire mating systems. This is the case of the Ripollesa sheep breed where genotyping of all replacement individuals with a 60-SNP chip was implemented since 2011. Despite the discriminant power for this custom panel must be greater than 99.9%, its performance could be highly dependant on the correct identification of potential sires for each individual. A total of 4,068 animals have been genotyped and paternity was checked for all of them. When candidate sires were previously identified on the basis of their flock of origin and age, sire was identified for 52.4% of individuals born before 2011 and 91.4% of individuals born between 2011 and 2014; note that most of the rams that sired older individuals were already culled from the flock when blood collection was performed. If analyses restricted to genotyping data, success in sire identification fell up to 9.3%. Within this context, this results highlighted both the usefulness of genotyping programs for paternity identification in small ruminant species and the key role of non-genetic information such as flock of origin and age of rams for optimizing success of paternity tests.

**Keywords:** genotype, paternity test, ripollesa breed, single nucleotide polymorphism