

EVALUACIÓN Y DESARROLLO DE LAS APTITUDES MATERNALES DE LAS OVEJAS - II

ACTIVIDAD 4.4

Herramienta de asignación de paternidad mediante SNPs



Innovation technique
et efficacité productive des élevages
des races ovines locales des territoires pyrénéens
pour améliorer leur durabilité

Innovación técnica y eficiencia productiva
de las explotaciones de razas ovinas autóctonas
del territorio pirenaico para mejorar su viabilidad

Interreg
POCTEFA



FEDER
FONDO EUROPEO DE DESARROLLO REGIONAL (FEDER)
FONDS EUROPÉEN DE DÉVELOPPEMENT REGIONAL (FEDER)

Reunión final_PIRINNOVI - Zaragoza

10/04/2019

1

Asignación de paternidad

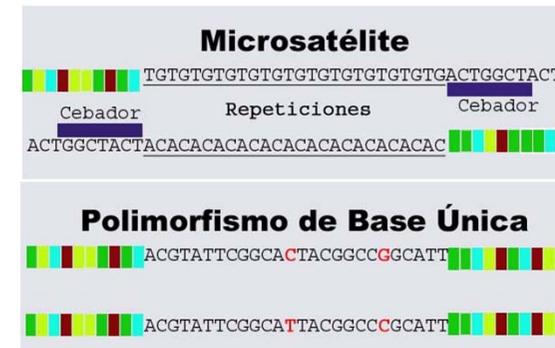
1. Herramienta de apoyo a los esquemas de selección

- **Filiación:** # Precisión de valoraciones genéticas es imprescindible la existencia de genealogías.



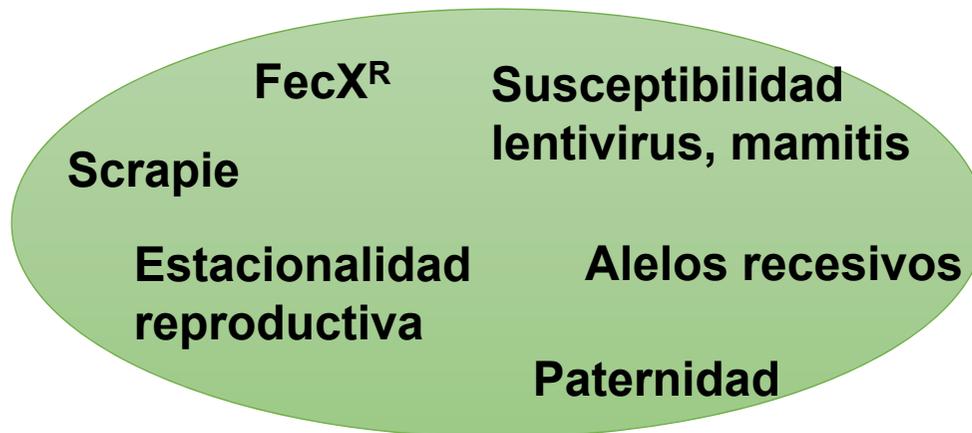
7-15% de errores en las asignaciones → 1,5-2,5 % de pérdida de ganancia a la selección

Consanguinidad



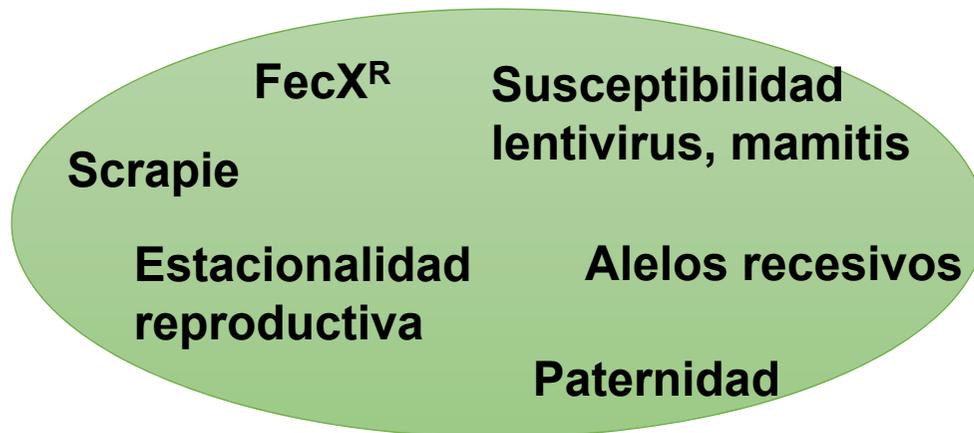
Panel de SNPs

SNPs paternidad + funcionales



Panel de SNPs

SNPs paternidad + funcionales



SAM: Selección asistida por marcadores

Interreg
POCTEFA

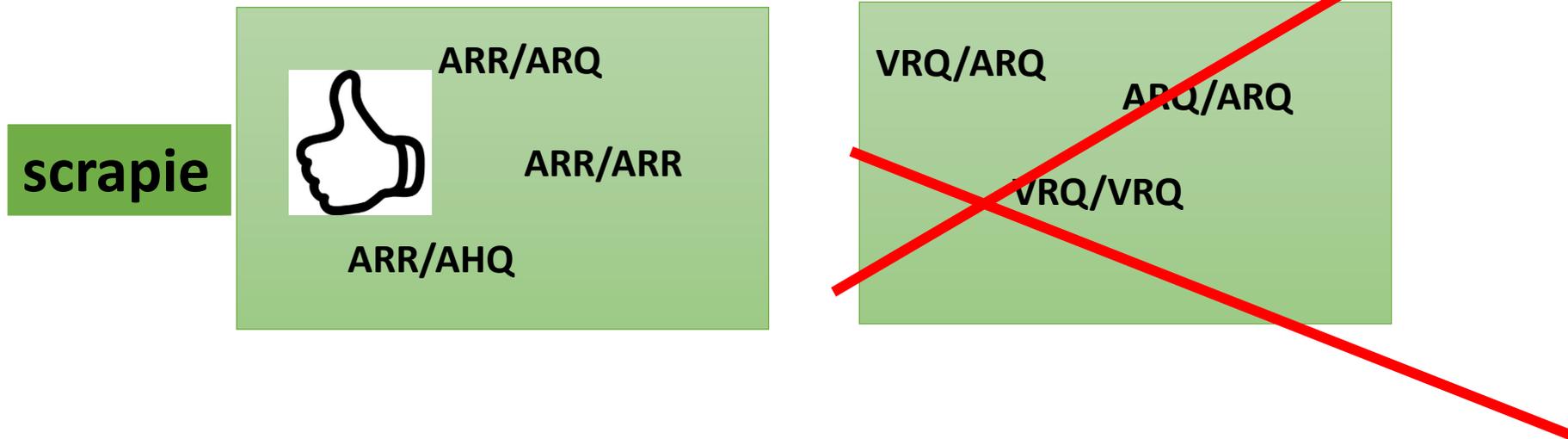


FEDER
FONDO EUROPEO DE DESARROLLO REGIONAL (FEDER)
FONDS EUROPÉEN DE DÉVELOPPEMENT REGIONAL (FEDER)



Panel de SNPs

- Pre-selección de reproductores:



Objetivos

1- Desarrollo de un panel de SNPs para la asignación de paternidad.

2- Validación en poblaciones comerciales

3- Validación mutaciones funcionales

Interreg
POCTEFA



FEDER
FONDO EUROPEO DE DESARROLLO REGIONAL (FEDER)
FONDS EUROPÉEN DE DÉVELOPPEMENT REGIONAL (FEDER)



Objetivos

1- Desarrollo de un panel de SNPs para la asignación de paternidad.

2- Validación en poblaciones comerciales

3- Validación mutaciones funcionales

Interreg
POCTEFA



FEDER
FONDO EUROPEO DE DESARROLLO REGIONAL (FEDER)
FONDS EUROPÉEN DE DÉVELOPPEMENT REGIONAL (FEDER)



7 razas (n=260)



Rasa Aragonesa (n=38)



Navarra (n=39)



Xisqueta (n=41)



Churra Tensina (n=38)



Ansotana (n=41)



Roya bilbilitana (n=24)



Maellana (n=39)

***Once dúos y 3 tríos**

Análisis genéticos

- Confirmación de ausencia *FecX^R*
- Confirmación de paternidad y maternidad con 19 microsatélites (ISAG-FAO):
 - 3 TRIOS
 - 11 DÚOS
- Hibridación de las muestras con el chip *Ovine SNP50BeadChip* (54.241 SNPs)



Selección del panel de SNPs para asignación de paternidad

- Selección de los SNPs descritos en otros paneles → PLINK

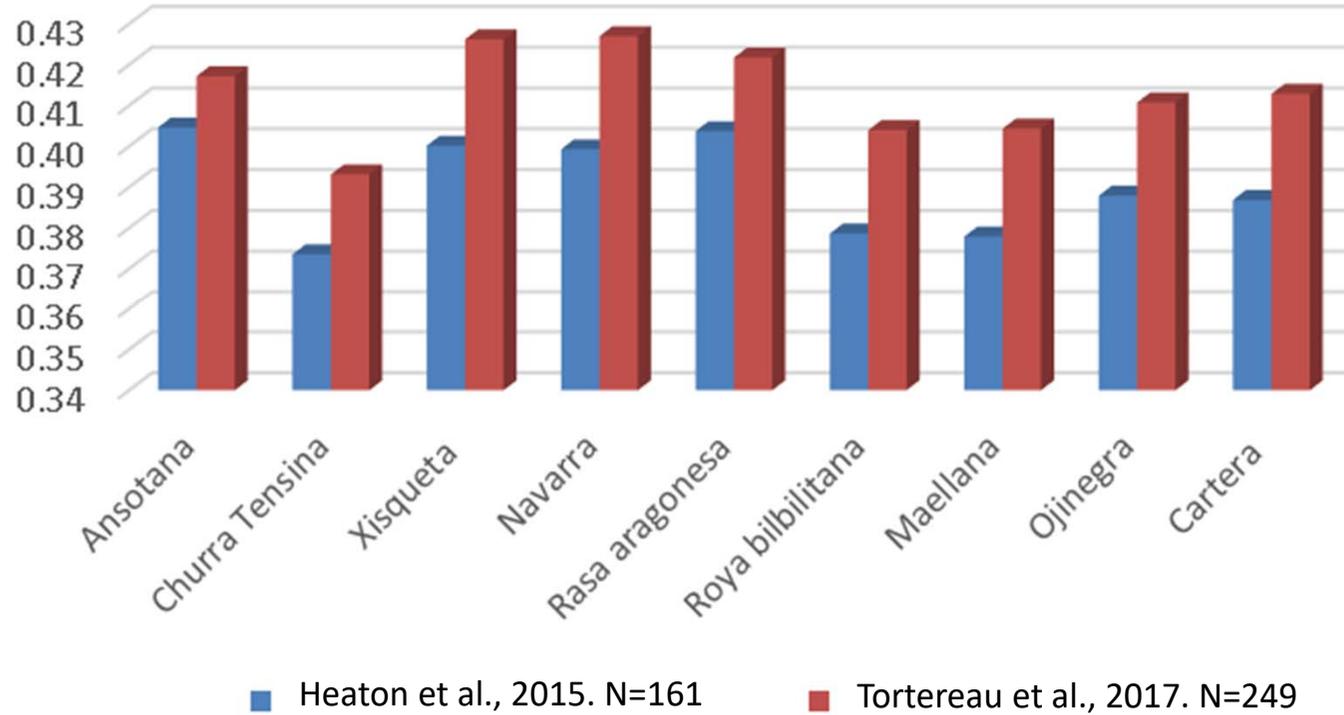


Estudio de la eficiencia del panel de SNPs para asignación de paternidad

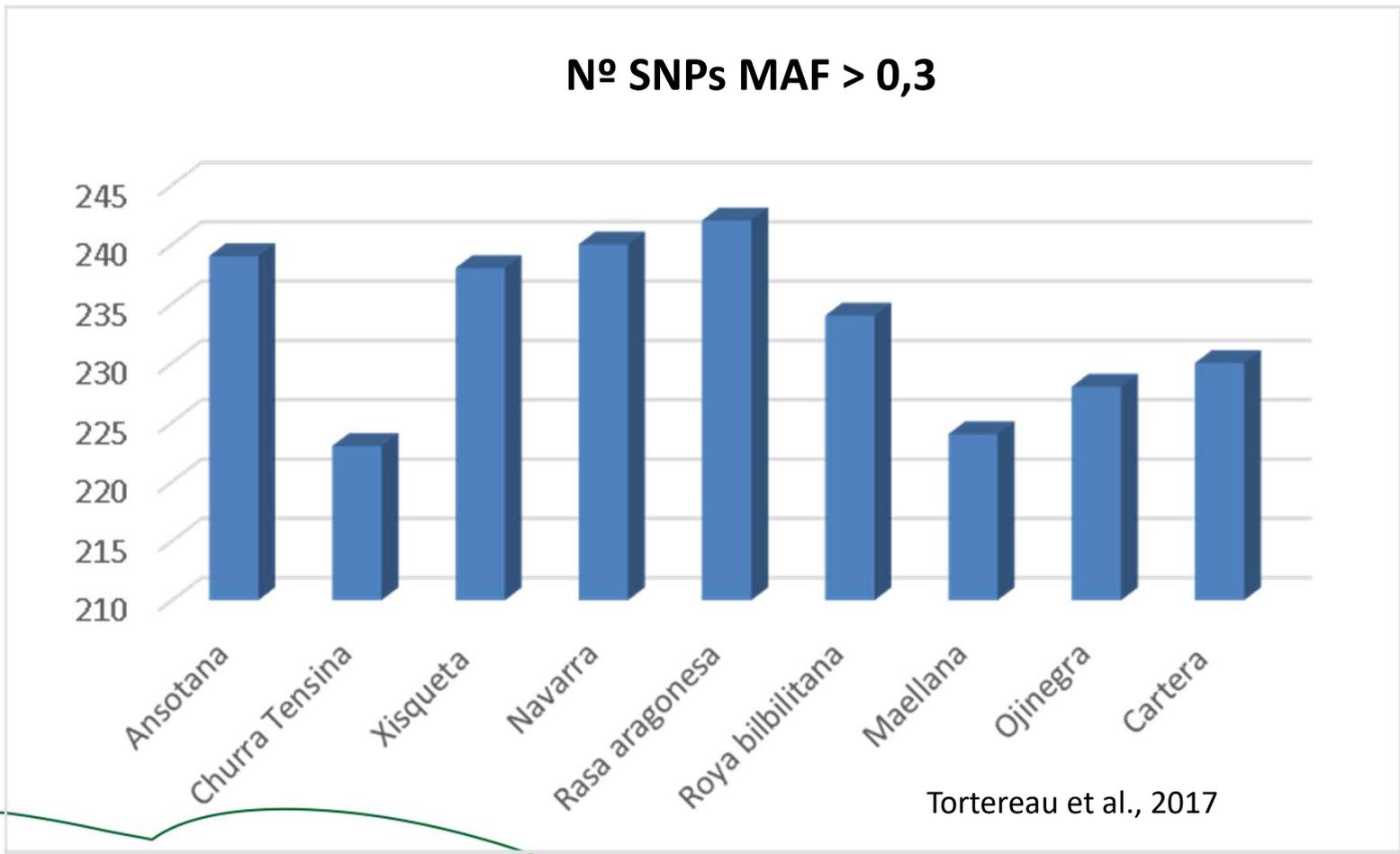
- Probabilidad de exclusión conociendo uno (PE1) o dos progenitores (PE2) (Schütz et al., 2015)

- Probabilidad de identidad (PI) $PI = \prod_{i=1}^{N_{snp}} (freqAA^2 + freqAB^2 + freqBB^2)$
(Tortereau et al., 2017)

MAF medio



Nº SNPs MAF > 0,3



Pe1, Pe2 y Pi

Breed	Ansotana	Churra Tensina	Xisqueta	Navarra	Rasa aragonesa	Roya bilbilitana
1-Pe1	4,2833E-14	3,285E-14	4,6183E-14	1,344E-13	1,3782E-13	9,6662E-14
1-Pe2	1,5264E-35	1,1737E-35	1,6265E-35	4,184E-35	4,6127E-35	3,2692E-35
Pi	2,356E-102	5,022E-102	1,066E-100	1,2331E-98	2,752E-100	1,437E-100

Francés: 249 SNPs (Tortereau et al., 2017)

Pe1, Pe2 y Pi

Breed	Ansotana	Churra Tensina	Xisqueta	Navarra	Rasa aragonesa	Roya bilbilitana
1-Pe1	4,2833E-14	3,285E-14	4,6183E-14	1,344E-13	1,3782E-13	9,6662E-14
1-Pe2	1,5264E-35	1,1737E-35	1,6265E-35	4,184E-35	4,6127E-35	3,2692E-35
Pi	2,356E-102	5,022E-102	1,066E-100	1,2331E-98	2,752E-100	1,437E-100

Francés: 249 SNPs (Tortereau et al., 2017)

Panel francés

Breed	Ansotana	Rasa aragonesa	Roya bilbilitana
1-Pe1	4,2833E-14	1,3782E-13	9,6662E-14
1-Pe2	1,5264E-35	4,6127E-35	3,2692E-35
Pi	2,356E-102	2,752E-100	1,437E-100



French

Selección del panel de SNPs para asignación de paternidad

SNPs seleccionados:

- Que presentasen herencia mendeliana, validándose a partir de los dúos y tríos.
- Existencia de equilibrio Hardy Weinberg.
- Porcentaje de individuos genotipados por SNP superior al 97%.

Selección del panel de SNPs para asignación de paternidad

SNPs seleccionados:

- MAF igual o superior a 0,3:
 - 157 SNP → MAF>0,3 en todas las razas.
 - 2 SNPs → MAF>0,3 en 8 razas (en 1 raza $0.25 < \text{MAF} < 0.3$)

Selección del panel de SNPs para asignación de paternidad

MAF, PE y Pi:

	Ansotana	Churra Tensina	Xisqueta	Navarra	Rasa aragonesa	Roya bilbilitana	Maellana	Ojinegra	Cartera
MAF	0.43	0.41	0.44	0.43	0.43	0.4	0.42	0.42	0.43
1-Pe1	1.57E-09	3.12E-09	1.37E-09	1.22E-09	1.51E-09	2.35E-09	2.07E-09	1.98E-09	1.74E-09
1-Pe2	1.74E-23	3.12E-23	1.56E-23	1.41E-23	1.69E-23	2.45E-23	2.25E-23	2.15E-23	1.94E-23
Pi	3.97E-66	1.02E-66	5.64E-68	3.84E-67	3.75E-66	1.58E-65	3.09E-66	1.00E-66	6.41E-68

Verificación paternidad tríos y dúos:

- 3 tríos OK.
- 5 dúos tuvieron fallos de asignación*.

*Resultados en concordancia con las asignaciones con microsatélites

CERVUS

Interreg
POCTEFA



FEDER
FONDO EUROPEO DE DESARROLLO REGIONAL (FEDER)
FONDS EUROPÉEN DE DÉVELOPPEMENT RÉGIONAL (FEDER)



Objetivos

1- Desarrollo de un panel de SNPs para la asignación de paternidad.

2- Validación en poblaciones comerciales

3- Validación mutaciones funcionales

Interreg
POCTEFA



FEDER
FONDO EUROPEO DE DESARROLLO REGIONAL (FEDER)
FONDS EUROPÉEN DE DÉVELOPPEMENT REGIONAL (FEDER)



Validación mediante KASP (Kompetitive allele specific PCR)

- 1060 corderos y 359 hembras adultas de 10 granjas y 4 razas

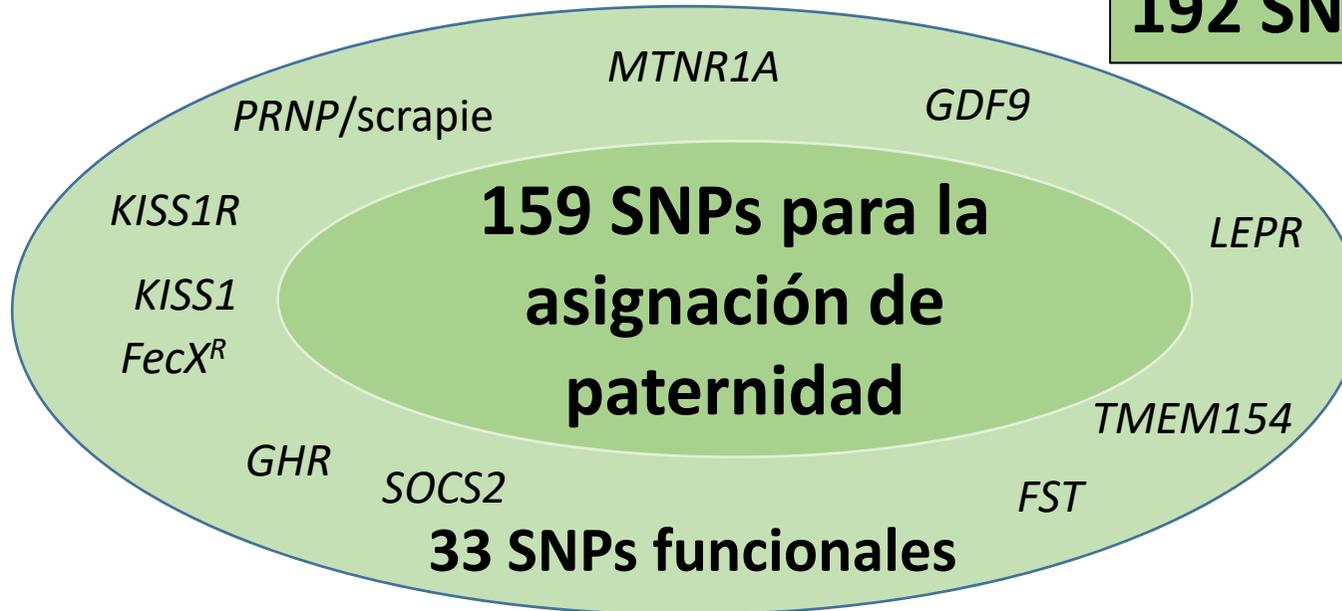


- Genotipado mediante KASP de 192 SNPs y visualización mediante SNP viewer (LGC): 159 SNPs para asignación de paternidad + 33 funcionales
- Asignación de paternidad mediante CERVUS 3.0.7.



Validación por KASP

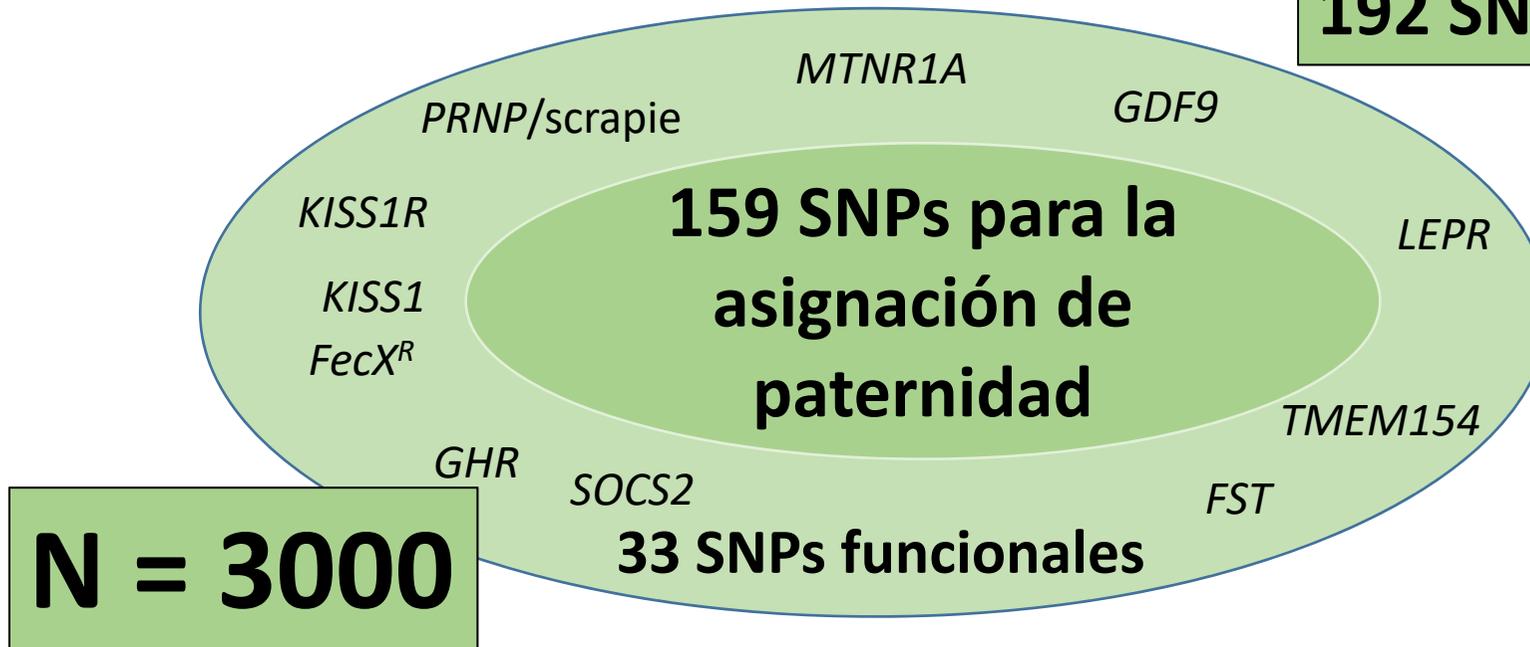
192 SNPs



Raza	Explotación	Corderos	% asignación	Machos	% de padres posibles muestreados
1					
	A	35	100	5	100
	B	140	74	26	80
	C	160	100	73	95-100
	D_2016	295	80	56	80
	D_2017	125	88	56	90-95
	D_adultas	359	11,1	86	No proporcionado
2					
	E	116	67	12	75
	F	39	31	19	No proporcionado
	G	31	26	6	No proporcionado
	H	50	96	10	95-100
3					
	I	39	87	5	85
	J	30	80	17	80
4					
	K	44	31,8	15	No proporcionado

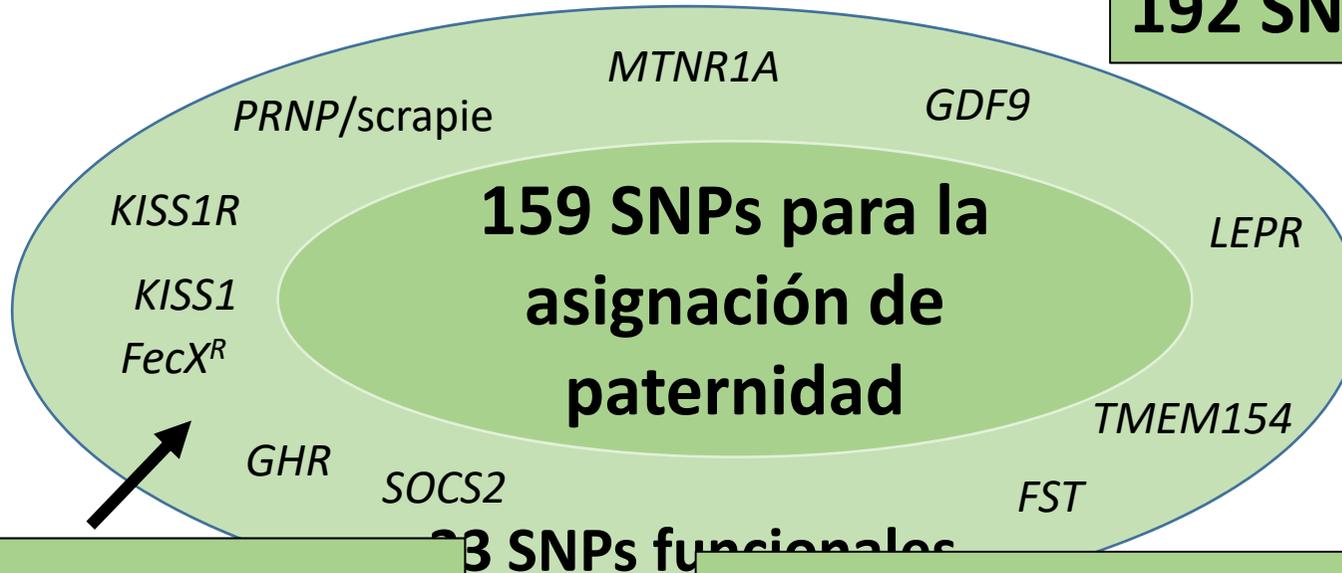
Validación por KASP

192 SNPs



Validación por KASP

192 SNPs



Nuevos SNPs

Actividad 5.3

Actividades de comunicación

DEVELOPMENT OF A SNP PARENTAGE
ASSIGNMENT PANEL IN SOME NORTH-EASTERN
SPANISH MEAT SHEEP BREEDS.



DESARROLLO DE UN PANEL DE SNPs PARA LA
ASIGNACIÓN DE PATERNIDAD APLICADO A LOS
PROGRAMAS DE MEJORA Y CONSERVACIÓN DE RAZAS
OVINAS DE CARNE DEL NORESTE DE ESPAÑA



Interreg
POCTEFA



FEDER
FONDO EUROPEO DE DESARROLLO REGIONAL (FEDER)
FONDS EUROPÉEN DE DÉVELOPPEMENT RÉGIONAL (FEDER)



Reunión final_PIRINNOVI - Zaragoza

10/04/2019

28

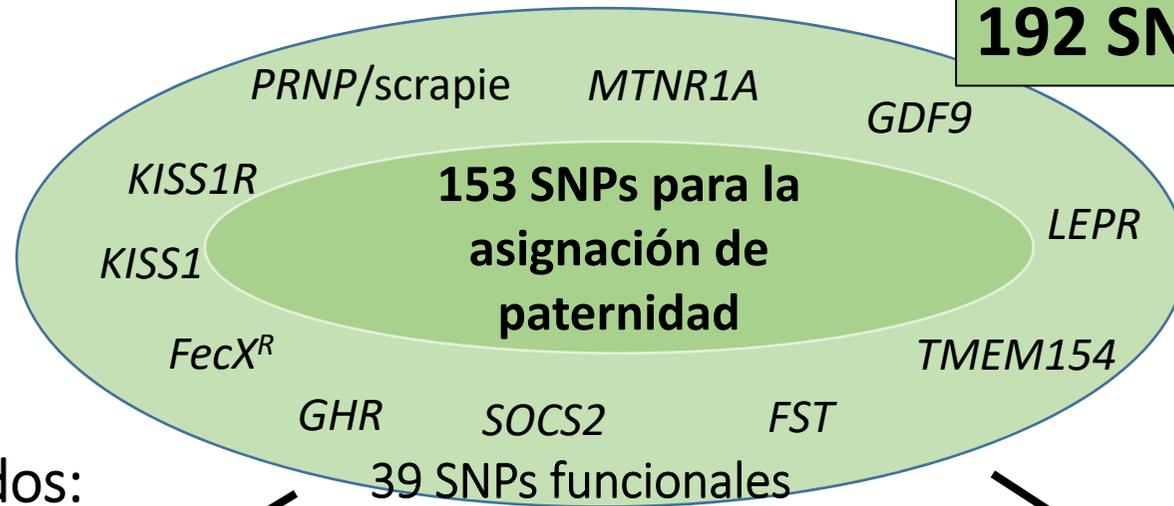
Objetivos

1- Desarrollo de un panel de SNPs para la asignación de paternidad.

3- Validación mutaciones funcionales

Validación

192 SNPs



Validados:

- FecX^R
- PRNP
- MTNR1A

Sin validar:

- GDF9
- LEPR
- KISS1
- ...

Edad al primer parto

Fenotipo

- Registros de edad al primer parto de 191.114 ovejas (sin tratamiento hormonal)
- Corrección por efectos ambientales: explotación, mes, año y genotipo FecXR.

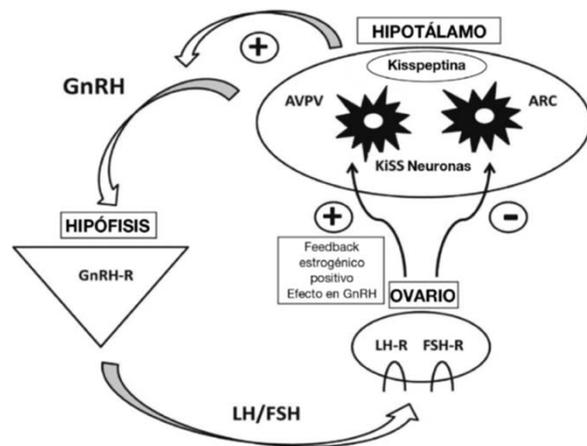
Genotipado

- Panel de 192 SNPs para paternidad y funcionales (n = 351).
- Asociación con GCTA teniendo en cuenta la matriz de relaciones de parentesco.

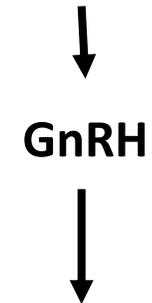
Edad al primer parto

Resultados

- 1 SNP del gen *KISS1R* asociado a una disminución de la edad al primer parto ($p < 0,001$)



Eje hipotálamo-hipófiso-gonadal



inicio pubertad y mantenimiento de la función reproductiva del adulto.

Conclusiones

Se ha puesto a punto un panel de SNPs eficaz en un grupo de razas ovinas españolas, comprobando su utilidad a mayor escala mediante genotipado con tecnología KASP en muestras procedentes de ganaderías de diferentes razas.

