

# APLICACIONES DE LA BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO

## *(NGS EN PRODUCCIÓN ANIMAL)*



# Índice de Contenido

- Biotecnología En Idiap
- Biotecnología y biodiversidad
- Genes de resistencia contra enfermedades
- SNP's de interés en producción animal
- SNP's y Desórdenes Genéticos mediante

Las Indias con los vecinos de las de panama y obispo  
... de ...

... ..

... ..

# B10T3CN0L06Í4 EN EL 1D14P

... ..

... ..

- **1987: En Divisa, abre el laboratorio de biotecnología en cultivo de tejidos vegetales.**
- **1996: Caracterización de plantas (otoe y yuca) con electroforesis de isoenzimas.**
- **2009: Primera publicación sobre caracterización raza Guabalá.**
- **2010: Primera publicación sobre diferenciación genética entre criollos Guaymí y Guabalá.**

•**2011: Primeros trabajos genética animal en Laboratorio Agrobiotecnología. (metodologías de extracción ADN, protocolos de PCR, electroforesis en gel, capilar y Bioinformática).**

•**SLC11A1**

•**BoLA-DRB3.2**

•**Bioinformática-estadística**

•**2013: Brote de Leucosis Enzoótica Bovina y 1er Diagnóstico de PCR anidada en Criollo Guaymí mediante gen env**

•**2015: Se funda el LABMA, Clayton, CdS.**

- **Protocolos**

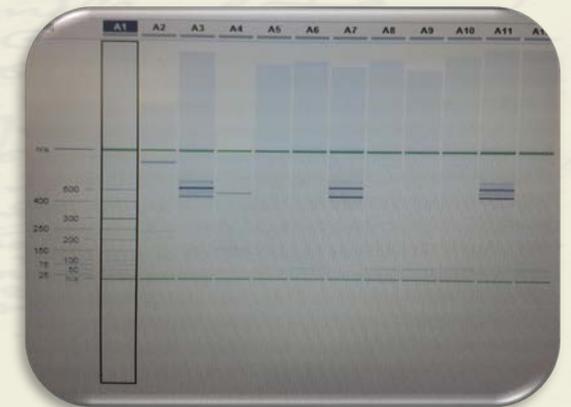
- **PCR punto final**

- **RT-PCR**

- **Amplificación de Fragmentos**

- **Secuenciación Sanger**

- **Secuenciación Next Gen Seq**



... de los años ...

[1519]

Las Indias con los vecinos de las de España y obispos  
obediencia en ella y el gobierno pedimento de la ley de ...  
... de ...

... mens ...

... los ... de ... de ... de ... de ... de ...  
... de ... de ... de ... de ... de ... de ...  
... de ... de ... de ... de ... de ... de ...

**B10T3CN0LOGÍA Y B10D1V3R51D4D**

... de ... de ... de ... de ... de ... de ...  
... de ... de ... de ... de ... de ... de ...  
... de ... de ... de ... de ... de ... de ...

... de ... de ... de ... de ... de ... de ...  
... de ... de ... de ... de ... de ... de ...  
... de ... de ... de ... de ... de ... de ...

## HISTORIA DE LOS BOVINOS EN PANAMÁ Y SU RELACIÓN CON LAS POBLACIONES BOVINAS DE IBEROAMÉRICA

HISTORY OF PANAMA BOVINES AND THEIR RELATIONSHIPS WITH OTHER IBEROAMERICAN POPULATIONS

Villalobos-Cortés, A. I.<sup>1</sup>, A.M. Martínez<sup>1</sup> y J.V. Delgado<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. Ed. C-5. Campus de Rabanales. 14071 Córdoba. España. \*z62vicoa@uco.es; \*id1debej@uco.es

### PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Razas criollas. Conservación. Recursos zoogenéticos.

### ADDITIONAL KEYWORDS

Creole breeds. Conservation. Zoogenetic resources.

### RESUMEN

Se hace una revisión histórica sobre el origen de la ganadería en América; se describen las migraciones de bovinos que se realizan desde España hacia las islas y los primeros envíos de animales desde La Española y Santiago hacia tierra firme, como Santa Marta, Colombia; Tamaulipas, México y Santa María La Antigua, Panamá. Se relata el movimiento de animales por todo el territorio panameño, influenciado por la presencia de Pedrarias Dávila como Gobernador de Castilla del Oro y posteriormente como Gobernador de Nicaragua; se plantea la importancia del paso de bovinos por Panamá y su importancia en la conquista del Perú y Ecuador. Y se concluye con la hipótesis histórica de la influencia genética de los bovinos llegados al Nuevo Mundo sobre el territorio Iberoamericano particularmente los bovinos que llegaron a Panamá.

### SUMMARY

An historic review of the origin of the American livestock is made; a description of the bovine migrations from Spain to the islands and the first sending of animals from La Española and Santiago to continental lands, like Santa Marta, Colombia; Tamaulipas, México and Santa María La Antigua, Panamá. The movement of animals over the Panamanian territory is related as influenced by Pedrarias Dávila, Governor of Castilla del Oro, later Governor of Nicaragua. The importance of

Panama like pathway of animals in the conquests of Peru and Ecuador is proposed. The historical hypothesis of the genetic influence of bovines arrived to the New World over the Iberoamerican territory, particularly the bovines of Panama is concluded.

### INTRODUCCIÓN

El ganado Criollo se identifica con animales que se han reproducido y adaptado a una determinada región agroclimática, por un determinado periodo de tiempo (Giovambattista *et al.*, 2001). Tal es el caso del ganado Criollo en América.

Los bovinos Criollos americanos (*Bos taurus*) procedentes de España, descendían directamente del Aurochs salvaje (*Bos primigenius*), domesticado durante la revolución agrícola en el periodo neolítico (Rouse, 1977; Beja-Pereira *et al.*, 2006). Datos arqueológicos recientes sugieren que este proceso de domesticación fue muy complejo y de origen múltiple con introducción de genes (por lo menos en algunas regiones) de razas locales y africanas, introducidas por vía marítima, por lo que les ha dado una importante variabilidad genética, particularmente a las razas del sur de Europa

## CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LA POBLACIÓN BOVINA GUABALÁ MEDIANTE MICROSATÉLITES

GENETIC CHARACTERIZATION OF THE GUABALA BOVINE POPULATION WITH MICROSATELLITES

Villalobos Cortés, A.I.<sup>1</sup>, A.M. Martínez<sup>2</sup>, J.L. Vega-Pla<sup>3</sup> y J.V. Delgado<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigación Agropecuaria. Estación Experimental El Ejido. Los Santos. Panamá. z62vicoa@uco.es

<sup>2</sup>Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. Edificio Gregor Mendel. Campus de Rabanales. 14014 Córdoba. España. ib2mamaa@uco.es

<sup>3</sup>Laboratorio de Investigación Aplicada. Servicio de Cría Caballar. Carretera Madrid-Cádiz, km 397. 14014 Córdoba. España. jvegpla@oc.mde.es

### PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Criollo. Conservación.

### ADDITIONAL KEYWORDS

Creole. Conservation.

### RESUMEN

Se caracterizó la población bovina Guabalá con un panel de 27 microsatélites seleccionados a partir de las recomendaciones de la FAO/ISAG (Food and Agriculture Organization/International Society of Animal Genetics) para estudios de biodiversidad genética bovina (FAO, 2004). Se analizaron muestras de ADN obtenidas de las poblaciones bovinas criollas Guabalá en la región Occidental de la República de Panamá y en la región del Valle de Antón, sitios donde se han ubicado ejemplares puros. La amplificación se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La electroforesis se llevó a cabo mediante un secuenciador automático ABI PRISM 377 XL. La tipificación alélica se realizó con los paquetes informáticos Genescan v.3.2.3 y Genotyper v.3.7. Para cada microsatélite se calculó el contenido de información polimórfica (PIC), el número medio de alelos (Na), la heterocigosis observada (Ho), la heterocigosis esperada (He), el estadístico Fis, y equilibrio Hardy-Weinberg (HWE). Los valores obtenidos fueron: PIC: 0,6044; Na: 5,63; He: 0,6458; Ho: 0,6265; Fis: 0,0504. Se observó que 9 microsatélites estaban en desequilibrio ( $p < 0,05$ ). Los valores se pueden considerar similares a los encontrados en otras poblaciones bovinas autóctonas españolas y permitirán realizar estudios minuciosos y analizar las relaciones de esta población con otras poblaciones bovinas.

### SUMMARY

In the present work, a Guabala Creole cattle was characterized by a twenty-seven microsatellite panel, selected from a recommendation of FAO/ISAG. Samples of DNA were obtained from the Guabala Creole cattle population in the occidental region of the Republic of Panama and the Anton Valley, places where we found pure animals of this population. From each microsatellite, the polymorphic information content (PIC), mean number of alleles (Na), observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He), Fis statistic and the exact test for Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) were calculated. The results found were: PIC: 0.6044; Na: 5.63; He: 0.6458; Ho: 0.6265; Fis: 0.0504. Nine microsatellites were in disequilibrium ( $p < 0.05$ ). The results are considered in the same range that those obtained in Spanish native populations, this result, can lead to other detailed studies of this population and the relationship with other bovine's populations.

### INTRODUCCIÓN

En años recientes las poblaciones autóctonas y criollas han ganado relevancia debido a su capacidad de adaptación, fertilidad y aprovechamiento de forraje de baja calidad, frente a razas especializadas que requieren una mayor inversión en sanidad,

# ESTRUCTURA GENÉTICA Y CUELLO DE BOTELLA DE LA POBLACIÓN BOVINA GUAYMÍ MEDIANTE MICROSATÉLITES

GENETIC STRUCTURE AND BOTTLENECK OF THE GUAYMI BOVINE POPULATION BY MEANS OF MICROSATELLITES

Villalobos Cortés, A.I.<sup>1\*</sup>, Martínez, A.M.<sup>2</sup>, Vega-Pla, J.L.<sup>3</sup> y Delgado, J.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigación Agropecuaria, Estación Experimental El Ejido, Los Santos, Panamá. z62vicoa@uco.es

<sup>2</sup>Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, Córdoba, España. lb2mamaa@uco.es

<sup>3</sup>Laboratorio de Investigación Aplicada, Cría Caballar de las Fuerzas Armadas, Córdoba, España. jvegpla@oc.mde.es

## PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Criollo. Conservación.

## ADDITIONAL KEYWORDS

Creole. Conservation.

## RESUMEN

Se caracterizó la población bovina Guaymí con un panel de 27 microsatélites seleccionados a partir de las recomendaciones hechas por la FAO/ISAG. Se analizaron muestras aleatorias de ADN obtenidas de la población bovina criolla Guaymí que se encuentran ubicadas en el área que comprende la comarca indígena Ngöbe-Buglé en la zona montañosa de la provincia de Chiriquí en la República de Panamá. Para cada microsatélite se calcularon el contenido de información polimórfica (PIC), el número medio de alelos (Na), la heterocigosis observada (Ho), la heterocigosis esperada (He), el estadístico  $F_{is}$ , y equilibrio Hardy-Weinberg (HWE). Además se calculó si existía cuello de botella en esta población. Los valores obtenidos fueron: PIC: 0,6899; Ne: 4,04; He: 0,7243; Ho: 0,7088;  $F_{is}$ : 0,0356. Se observaron tres microsatélites en desequilibrio ( $p < 0,05$ ). Los valores encontrados se consideran dentro de los rangos obtenidos en otras poblaciones criollas, exóticas y autóctonas españolas. Se requiere realizar estudios más detallados de estas poblaciones y su relación con otras poblaciones bovinas. No se observa cuello de botella en el pasado reciente de esta población.

## SUMMARY

Guaymi creole cattle were characterized by a 27 microsatellite panel, selected from a

recommendation of FAO/ISAG. Random samples of DNA were taken from Guaymi creole cattle population in the highlands of the Chiriqui province in Ngöbe-Buglé region in the Panama Republic. From each microsatellite, was calculated the polymorphic information content (PIC), mean number of alleles (Na), observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He), the  $F_{is}$  statistic, the exact test for Hardy-Weinberg equilibrium (HWE). Besides a bottleneck study was calculated in this population. The result of the analysis show a PIC: 0.6899; Ne: 4.04; He: 0.7243; Ho: 0.7088;  $F_{is}$ : 0.0356. Three microsatellites were in unbalance ( $p < 0.05$ ). The results are considered in the same range of values from other creoles, exotics and Spanish native populations. It requires more detailed studies of these populations and its relation to other cattle populations. No bottleneck was showed in the recent past.

## INTRODUCCIÓN

Los primeros informes oficiales de entrada de bovinos en Panamá se observan en la Cédula Real de Burgos del 6 de septiembre de 1521, desde la isla de Santiago (Jamaica) a solicitud de Pedro Arias de Ávila, de importar cincuenta reses y otros bastimentos para repartir entre los vecinos de la ciudad



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Livestock Science

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/livsci](http://www.elsevier.com/locate/livsci)



## Study of genetic diversity of the Guaymi and Guabala bovine populations by means of microsatellites

A.I. Villalobos Cortés<sup>a,\*</sup>, A.M. Martínez<sup>b</sup>,

J.L. Vega-Pla<sup>c</sup>, J.V. Delgado<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Investigación Agropecuaria, Estación Experimental El Ejido, Los Santos, Panama

<sup>b</sup> Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, Edificio Gregor Mendel, Campus de Rabanales, 14071 Córdoba, Spain

<sup>c</sup> Laboratorio de Investigación Aplicada, Cría Caballar de las Fuerzas Armadas, Carretera Madrid-Cádiz km 397, 14071 Córdoba, Spain

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 25 August 2009

Received in revised form 2 December 2009

Accepted 21 February 2010

### Keywords:

Creole  
Diversity  
Preservation  
Guaymi  
Guabala

## ABSTRACT

A total of 61 individuals belonging to the Guaymi (GY) and Guabala (GUA) populations were typed with 27 microsatellites. A mean of 5.61 (GUA) and 7.5 (GY) alleles per population was typed, and  $F_{is}$  values were 0.053 (GUA) and 0.033 (GY). The exclusive alleles of each population were 67 (GY) compared to the 16 observed in the GUA population, while 135 alleles are shared by both. The Ho and He were 0.628 (GUA) and 0.710 (GY) and 0.648 (GUA) and 0.724 (GY) respectively. The fixation index  $F_{st}$  was 0.068 demonstrating a moderate level of genetic differentiation. The effective number of migrants per generations was 3.40 between GY and GUA. A comparison with most popular breeds in Panama *Bos indicus* (GYR, BRH, SIN, GUZ and NEL) and *Bos taurus* (FRI, SPA and HER) was made because of possible crossbreeding. The AMOVA and a NeighborNet tree performed, provided a detailed interrelationship network, and show an important difference between Panama creoles cattle population and most popular breeds. Strategies for preserving the original Panama cattle creole population should be considered in order to prevent the breed from becoming extinct and to strengthen the breed's capability in future breeding programs.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

In recent years, the native and ethnic populations have gained prominence due to its adaptability, its fertility and good usage of low quality fodder, when compared with the selected breeds, that required higher investment in sanitation, feeding and reproductive handling (Tewolde, 1997). These native population were brought by the Spaniard

needed by the recently created Panama City in 1519. The entry took place through Santa Maria La Antigua del Darien in 1521 (Archivo General de Indias, 1521; Rodero et al., 1992). Due to this fact and the fast proliferation of these animals, within this new territory, and the foundation of new cities, migrations took place from Panama towards the west reaching Chiapas, Mexico and from Panama to the Peruvian region in South America (Archivo General de Indias, 1532; Cortés,

Axel Villalobos-Cortés<sup>(1)</sup>, Amparo Martínez<sup>(2)</sup>, José Luis Vega-Pla<sup>(3)</sup>, Vincenzo Landi<sup>(2)</sup>, Jorge Quiroz<sup>(4)</sup>, Rubén Martínez<sup>(5)</sup>, Roberto Martínez López<sup>(6)</sup>, Phil Sponenberg<sup>(7)</sup>, Eileen Armstrong<sup>(8)</sup>, Delsito Zambrano<sup>(9)</sup>, Jose Ribamar Marques<sup>(10)</sup> y Juan Vicente Delgado<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Instituto de Investigación Agropecuaria, Laboratorio de Agrobiotecnología, Apartado 6-4391 El Dorado, Panamá. E-mail: villalobos.axel@gmail.com <sup>(2)</sup>Universidad de Córdoba, Departamento de Genética, Edificio Gregor Mendel, Campus de Rabanales, 14071 Córdoba, España. E-mail: lb2mamaa@uco.es <sup>(3)</sup>Cria Caballar de las Fuerzas Armadas, Laboratorio de Investigación Aplicada, Carretera Madrid-Cádiz Km 397, 14071 Córdoba, España. E-mail: jvegpla@oc.mde.es <sup>(4)</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Km 1, Carretera Huimanguillo-Cárdenas, Huimanguillo, CP 86400, Tabasco, México. E-mail: quiroz.jorge@inifap.gob.mx <sup>(5)</sup>Universidad Nacional Lomas de Zamora, Departamento de Genética Animal, Ruta 4, Km 2, 1836 Llavallol, Argentina. E-mail: martinezruda@yahoo.com.ar <sup>(6)</sup>Universidad Nacional de Asunción (UNA), Campus de la UNA, San Lorenzo, Paraguay. E-mail: agrotulo@yahoo.com <sup>(7)</sup>Virginia Tech, Virginia-Maryland College of Veterinary Medicine, Duck Pond Drive (0442), Blacksburg, Virginia 24061, USA. E-mail: dpsonen@vt.edu <sup>(8)</sup>Universidad de la República, Departamento de Genética y Mejora Animal, Chaná 2020, 11200 Montevideo, Uruguay. E-mail: eileen.armstrong@gmail.com <sup>(9)</sup>Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Km 7, Vía El Empalme (entrada a Mocache), Finca Experimental La María, Ecuador. E-mail: delsitoz@yahoo.com <sup>(10)</sup>Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 48, CEP 66095-100 Belém, PA, Brasil. E-mail: marques@cpau.embrapa.br

**Resumen** – El objetivo de este trabajo fue establecer la relación genética entre poblaciones bovinas panameñas Guabalá y Guaymí y algunas poblaciones criollas de Latinoamérica. Se practicó un análisis factorial de correspondencias, análisis de varianza molecular, distancias genéticas, número medio de migrantes por población y los estadísticos F de Wright. Se evaluó la estructura de la población mediante un modelo Bayesiano, suponiéndose un número desconocido de K grupos diferentes genéticamente. El análisis factorial de correspondencias mostró que las poblaciones Guabalá y Guaymí se agrupan con los bovinos criollos mexicanos y el Texas Longhorn. Igualmente se observó menor diferenciación genética de las criollas panameñas con mexicanos y el Texas Longhorn. Los análisis de distancia genética también mostraron datos similares a los obtenidos por el AMOVA y por el análisis factorial de correspondencia, y se observó menor distancia entre poblaciones del norte y las panameñas, en comparación con las poblaciones del sur. La agrupación bayesiana permitió la asignación de los individuos a su respectivo grupo, con base en su semejanza genética, y proporcionó información acerca del número de poblaciones bajo el cual se originan. Hay una estrecha relación histórica, genética y geográfica de las poblaciones panameñas, criollas mexicanas y Texas Longhorn, a partir de las migraciones de sus precursores desde las Antillas hacia Panamá y México.

**Términos de indexación:** conservación, criollo, estructura genética, Guabalá, Guaymí, QTL.

## Relationships between Panamanians and some creole cattle landraces in Latin America

**Abstract** – The objective of this work was to establish the genetic relationship between Guabalá and Guaymí cattle populations and some native ones of Latin America. Factorial correspondence analysis, analysis of molecular variance, genetic distances, average number of migrants per population and Wright's F statistics were performed. Population structure was assessed by a Bayesian model, assuming an unknown number of K genetically distinct groups. The correspondence analysis showed that the populations of Guabalá and Guaymí cluster with Mexican creole cattle and Texas Longhorn. Lower genetic differentiation of Panamanian creole with Mexican and Texas Longhorn was also observed. The analyses of genetic distances have also shown similar results to those obtained by AMOVA and by the factorial correspondence analysis, and the less distance was observed between north populations and Panamanian ones, in comparison with southern populations. Bayesian clustering permitted the assignment of individuals to their respective groups, based on their genetic similarity, and provided information on the number of cluster from which they originate. There is a close historical, genetic, and geographic relationship of Panamanian, Mexican, and Texas Longhorn populations due to the migration of precursors from the Caribbean islands to Panama and Mexico.

**Index terms:** conservation, local breeds, genetic structure, Guabalá, Guaymí, QTL.



## SHORT COMMUNICATION

### A preliminary study of solute carrier family gene in adapted bovine breeds of Panama

Axel Villalobos Cortés, Rita González Herrera

Laboratorio Agrobiotecnología, Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, Herrera, Panama

#### Abstract

*SLC11A1*, the solute carrier family gene formerly known as bovine natural resistance-associated macrophage protein (NRAMP), has the polymorphism of the associated microsatellites located in its 3' untranslated region (UTR). *SLC11A1* has been associated with susceptibility or resistance to several intracellular pathogens. In Panama, several genetic characterization studies have been performed on the Guaymí (GY) and Guabalá (GUA) Creole breeds. Given that these breeds adapted to the local environment over a long period, there is an extremely high probability that an examination of the *SLC11A1* gene could reveal alleles of this gene that confer resistance to disease. Therefore, the aim of this study was to identify the associated microsatellites located in its 3' UTR of the *SLC11A1* gene in bovine breeds locally adapted to Panama. Four locally adapted bovine breeds were studied. In total, 35 of the amplified samples were sequenced, revealing new polymorphisms such as (GT)<sub>3</sub>, (GT)<sub>4</sub> and (GT)<sub>5</sub> in GT regions. The most common repeats among the evaluated populations were (GT)<sub>11</sub>, (GT)<sub>6</sub> and (GT)<sub>4</sub>, which were found in 34.3, 20.0 and 11.4% of samples, respectively. Moreover, the (GT)<sub>13</sub> repeat, which is associated with natural resistance against brucellosis, was found in the GUA breed. In addition, based on the numbers of GT repeats found in the sequenced samples, the GUA breed exhibited

kb (Céllier *et al.*, 1994). This gene has a microsatellite polymorphisms due to the variations in the number of GT repeats located in its 3' untranslated region (UTR); as a result, this microsatellite exhibits polymorphic patterns known as Nramp1.1 (Feng *et al.*, 1996) and Nramp1.2 (Horin *et al.*, 1999). These patterns are produced not only by changes in the number of guanine and thymine (GT) repeats but also by variations in the number of 5'-adjacent G residues, which are generally caused by errors during DNA replication (Goldstein and Pollock, 1997). Prior to this study, recent reports have demonstrated that there are polymorphisms in a microsatellite of the *SLC11A1* gene (Hasenauer *et al.*, 2013). Research has indicated that the *SLC11A1* gene is related to susceptibility or resistance to several intracellular pathogens. This gene encodes a divalent cation carrier located in the phagolysosome membranes of macrophages (Kerpolo and Ames, 1992; Céllier *et al.*, 1994). Studies have demonstrated that this gene plays an important role in innate immunity, promotes the elimination of bacteria by macrophages, and affects adaptive immunity in mice (Vidal *et al.*, 1995). In cattle, this gene has been associated with resistance against infection by *Brucella abortus* (Feng *et al.*, 1996; Adams and Templeton, 1998; Horin *et al.*, 1996; Barthel *et al.*, 2001). However, conflicting findings exist, such as the results reported by Kumar *et al.* (2005), and Paixao *et al.* (2007), who did not detect an association between 3' UTR polymorphism in *SLC11A1* and brucellosis resistance in examinations of crosses between *Bos taurus* and Hariana cattle in India. In Panama, genetic characterization studies of the Guaymí (GY) and Guabalá (GUA) Creole breeds have been performed (Villalobos Cortés *et al.*, 2010). Given that these breeds have adapted to the Panamanian environment over a long period, it is likely that alleles of a microsatellite associated with the *SLC11A1* gene that confer resistance to diseases can be found; such alleles would have great importance due to their potential use in genetic conservation and

Corresponding author: Dr. Axel Villalobos Cortés, Laboratorio Agrobiotecnología, IDIAP, Divisa, Carretera Panamericana, km 214, Provincia de Herrera, Panama. Tel. +507.9761265. E-mail: villalobos.axel@gmail.com

**Key words:** Genetics; Bovine; Local breeds; Molecular markers; Microsatellites.

**Acknowledgments:** the authors would like to acknowledge the Agricultural Research Institute of Panama (Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, IDIAP) and the National Secretary of Science and Technology (Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología) for funding this study.

Received for publication: 10 May 2015.  
Accepted for publication: 4 September 2015.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution NonCommercial 3.0 License (CC BY-NC 3.0).

©Copyright Á. Villalobos Cortés, and R. González Herrera, 2015  
Licensee PAGEPress, Italy  
Italian Journal of Animal Science 2015; 14:4057  
doi:10.4081/ijas.2015.4057

## Materials and methods

Hair samples were obtained from 15 GY animals, 19 GUA animals, 10 BRH animals, 10 SEN animals, and 5 FI animals from the Brown Swiss×BRH cross (and were therefore ½ Brown Swiss and ½ BRH). The BRH and GY samples were obtained from the Agricultural Research Institute of Panama (Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá, IDIAP) core conservation site located at the Calabacito Farm in Veraguas. GUA samples were obtained from private producers' core conservation sites in Valle de Antón, Coclé, and the La Isleta agritourism farm in Guabalá, Chiriquí. Samples from FI Brown Swiss × Zebu crosses (SYC)

SHORT COMMUNICATION

 OPEN ACCESS

## Comparison of two geo-evolutionary analysis methods using local and cross-border bovine breeds

Áxel Villalobos-Cortés<sup>a</sup> , Amparo Martínez<sup>b</sup> , José Vega-Pla<sup>c</sup>  and Juan Vicente Delgado<sup>b</sup> 

<sup>a</sup>Laboratorio de Análisis y Biología Molecular Aplicada, Instituto de Investigación Agropecuaria, Panama, Panama; <sup>b</sup>Departamento de Genética, University of Cordoba, Córdoba, Spain; <sup>c</sup>Laboratorio de Investigación de las Fuerzas Armadas, Córdoba, Spain

### ABSTRACT

New clustering algorithms have emerged in population genetics and molecular ecology areas as important tools to infer the genetic structure of a given population. Currently, methodologies based on Bayesian models are used for this purpose. These methodologies consider the geographical area, whereas other studies explore the use of geographic coordinates based in Voronoi mosaics. The aim of this study was to use a multi-locus genotype database of bovine populations to compare the populations with two programmes that based their analysis on Bayesian models with different focuses. A database of 1053 animals from 33 bovine populations was analysed (native, Creole and cross-border breeds) using 27 microsatellite markers. The STRUCTURE<sup>®</sup> version 2.2.3 software was selected for the identification and calculation of the proportion of the mixture of individuals within each population as recommended by the software using different K calculations ( $n=2, 3, \dots, 33$ ). Additionally, TESS<sup>®</sup>, which uses the Bayesian model with clustering algorithms, was used for the analysis. We concluded that both models showed different results; the discrepancies probably occurred because some of the studied populations might have shown the panmixia principle, thereby altering the final result. This study draws attention to the selection of the most appropriate analysis software for different populations with different selection and mating models based on basic genetic principles, such as the Hardy-Weinberg and linkage disequilibrium, because the results can be misinterpreted, leading to incorrect conclusions. Population behaviour, including reproduction and genetic origins, should be taken into account before using a given quantitative analysis method.

### ARTICLE HISTORY

Received 15 October 2016  
Revised 27 December 2016  
Accepted 17 January 2017

### KEYWORDS

Bioinformatics; statistics;  
genetics; populations;  
Bayesian model

### Introduction

Landscape genetics is a new field of study that has emerged with the recent improvement of molecular techniques combined with new statistical tools, such as geo-statistics, maximum likelihood and Bayesian estimations, and more rapid computers with a higher analysis capacity (Guillot et al. 2005). Landscape genetics is defined as the study of the interaction between spatial patterns and ecological processes. This field aims to provide information about the interaction between the natural landscape and micro-evolutionary processes, such as genetic flow, genetic erosion and selection (Holderegger & Wagner 2006). It also aids in

such as mountains and moisture gradients (Manel et al. 2003). This focus is useful because it enables different disciplines, such as evolutionary and ecological biology, to understand how the movement of individuals or gametes influences the genetic structure of a population (Manel et al. 2003). Clustering and similarity methods have the potential to group individuals into population units and to detect migrants without the need for an *a priori* definition of limits (Pritchard et al. 2000; Falush et al. 2003). However, these cluster models methods do not explicitly take into account the spatial nature of the problem of detecting and locating genetic discontinuities. In other words, the methods are based on the assumption that the *a priori*

## RESEARCH

## Open Access

# Analysis of conservation priorities of Iberoamerican cattle based on autosomal microsatellite markers

Catarina Ginja<sup>1\*</sup>, Luís T Gama<sup>2</sup>, Óscar Cortes<sup>3</sup>, Juan Vicente Delgado<sup>4</sup>, Susana Dunner<sup>3</sup>, David García<sup>3</sup>, Vincenzo Landi<sup>4</sup>, Inmaculada Martín-Burriel<sup>5</sup>, Amparo Martínez-Martínez<sup>4</sup>, M Cecilia T Penedo<sup>6</sup>, Clementina Rodellar<sup>5</sup>, Pilar Zaragoza<sup>5</sup>, Javier Cañón<sup>3</sup> and [BioBovis Consortium](#)

### Abstract

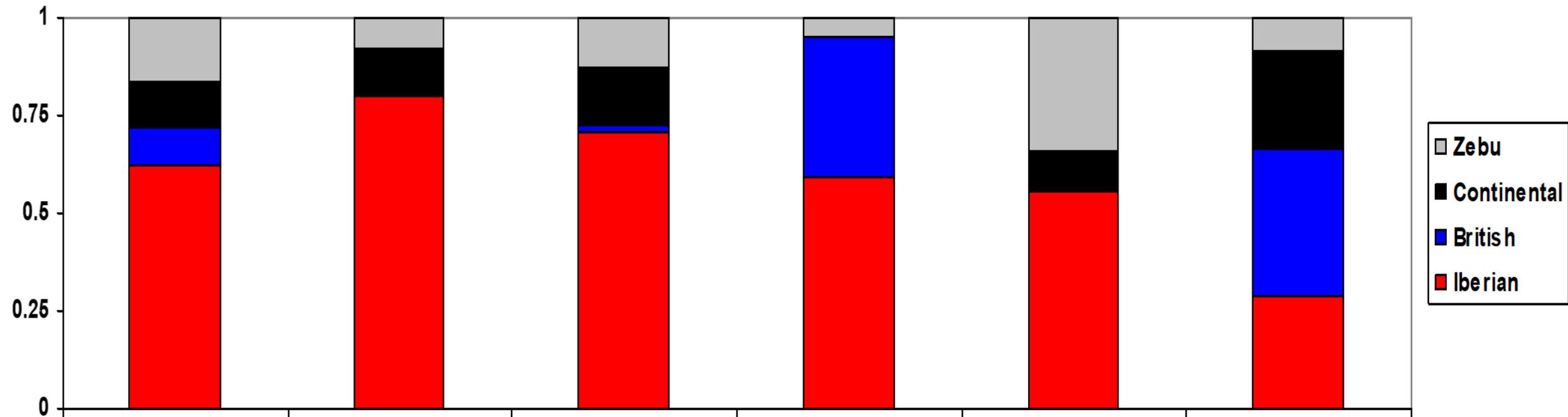
**Background:** Determining the value of livestock breeds is essential to define conservation priorities, manage genetic diversity and allocate funds. Within- and between-breed genetic diversity need to be assessed to preserve the highest intra-specific variability. Information on genetic diversity and risk status is still lacking for many Creole cattle breeds from the Americas, despite their distinct evolutionary trajectories and adaptation to extreme environmental conditions.

**Methods:** A comprehensive genetic analysis of 67 Iberoamerican cattle breeds was carried out with 19 FAO-recommended microsatellites to assess conservation priorities. Contributions to global diversity were investigated using alternative methods, with different weights given to the within- and between-breed components of genetic diversity. Information on Iberoamerican plus 15 worldwide cattle breeds was used to investigate the contribution of geographical breed groups to global genetic diversity.

**Results:** Overall, Creole cattle breeds showed a high level of genetic diversity with the highest level found in breeds admixed with zebu cattle, which were clearly differentiated from all other breeds. Within-breed kinships revealed seven highly inbred Creole breeds for which measures are needed to avoid further genetic erosion. However, if contribution to heterozygosity was the only criterion considered, some of these breeds had the lowest priority for conservation decisions. The Weitzman approach prioritized highly differentiated breeds, such as Guabalá, Romosinuano, Cr. Patagonico, Siboney and Caracú, while kinship-based methods prioritized mainly zebu-related breeds. With the combined approaches, breed ranking depended on the weights given to the within- and between-breed components of diversity. Overall, the Creole groups of breeds were generally assigned a higher priority for conservation than the European groups of breeds.

**Conclusions:** Conservation priorities differed significantly according to the weight given to within- and between-breed genetic diversity. Thus, when establishing conservation programs, it is necessary to also take into account other features. Creole cattle and local isolated breeds retain a high level of genetic diversity. The development of sustainable breeding and crossbreeding programs for Creole breeds, and the added value resulting from their products should be taken into consideration to ensure their long-term survival.

**Maximum-likelihood estimates of proportional genetic contributions from Iberian, British, Continental and *Bos indicus* breeds to Creole cattle, considered as a whole or grouped in five different clusters. The breeds included in each cluster are listed below, and pictures of representative animals of each cluster are also shown.**



**All Creole breeds**

**Creole cluster 1**

Guabalá  
Guaymí  
Ramosinuano  
Costeño con Cuernos

**Creole cluster 2**

Texas Longhorn  
C. Baja California  
Criollo Chihuahua  
Criollo de Nayarit  
Criollo Poblano  
Sanmartinero

**Creole cluster 3**

Caracú  
Criollo Argentino  
Criollo Patagónico  
Criollo Uruguayo

**Creole cluster 4**

Criollo Cubano  
Siboney  
Criollo de Ecuador  
Velasquez  
Caqueteño  
Criollo de Chiapas  
Criollo Pilcomayo  
C. Casanareño  
Chino Santandereano

**Creole cluster 5**

Pampa Chaqueño  
Blanco Orejinegro  
Lucerna  
Hartón del Valle







INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN  
AGROPECUARIA DE PANAMÁ



SECRETARÍA NACIONAL DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN

**SNI**

Sistema Nacional de Investigación

# PROTOCOLO DE AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DEL GEN BoLA-DRB3 EN BOVINOS CRIOLLOS GUAYMÍ Y GUABALÁ

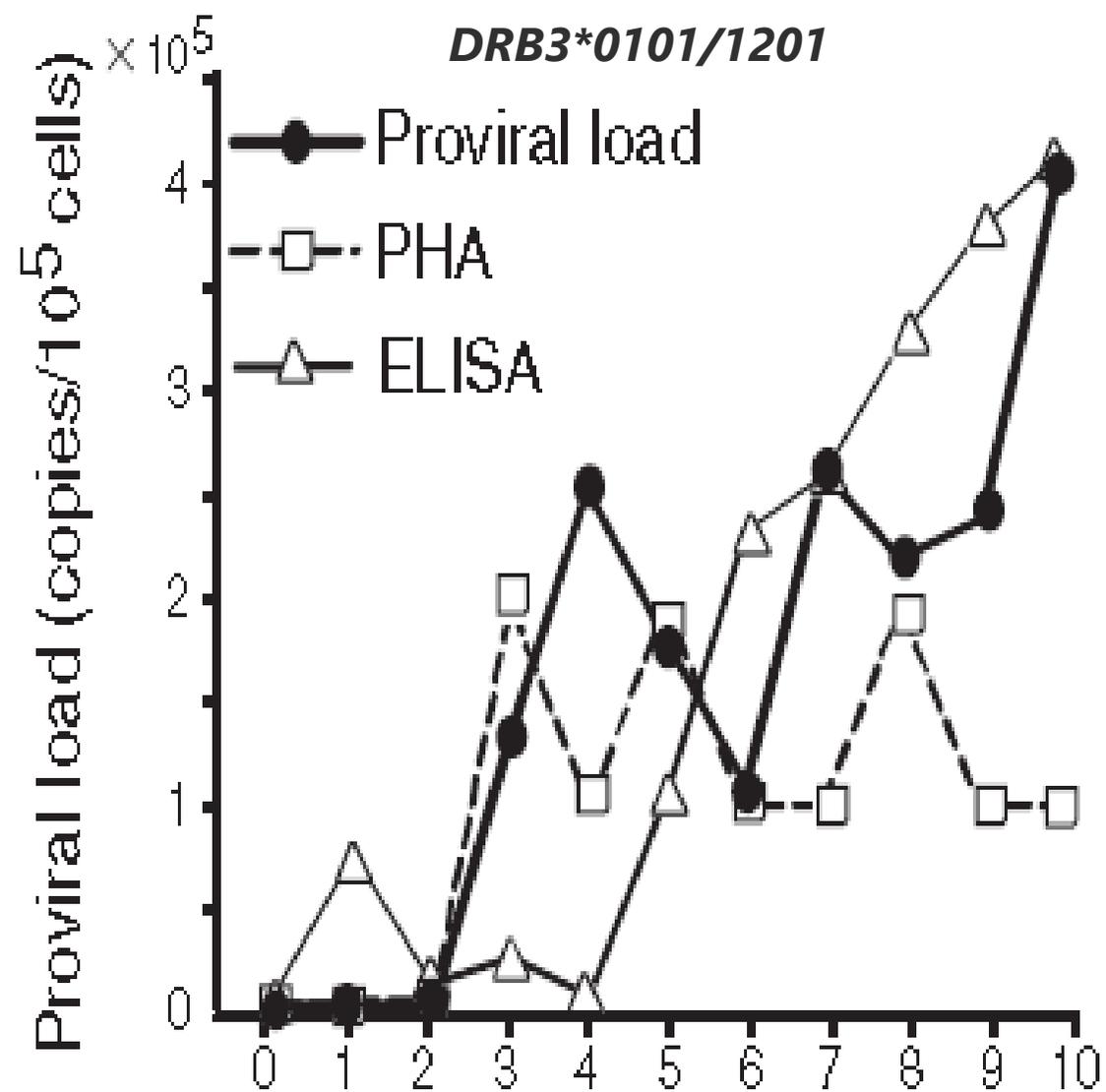


# GEN BoLA-DRB3

## Antígeno Leucocitario Bovino

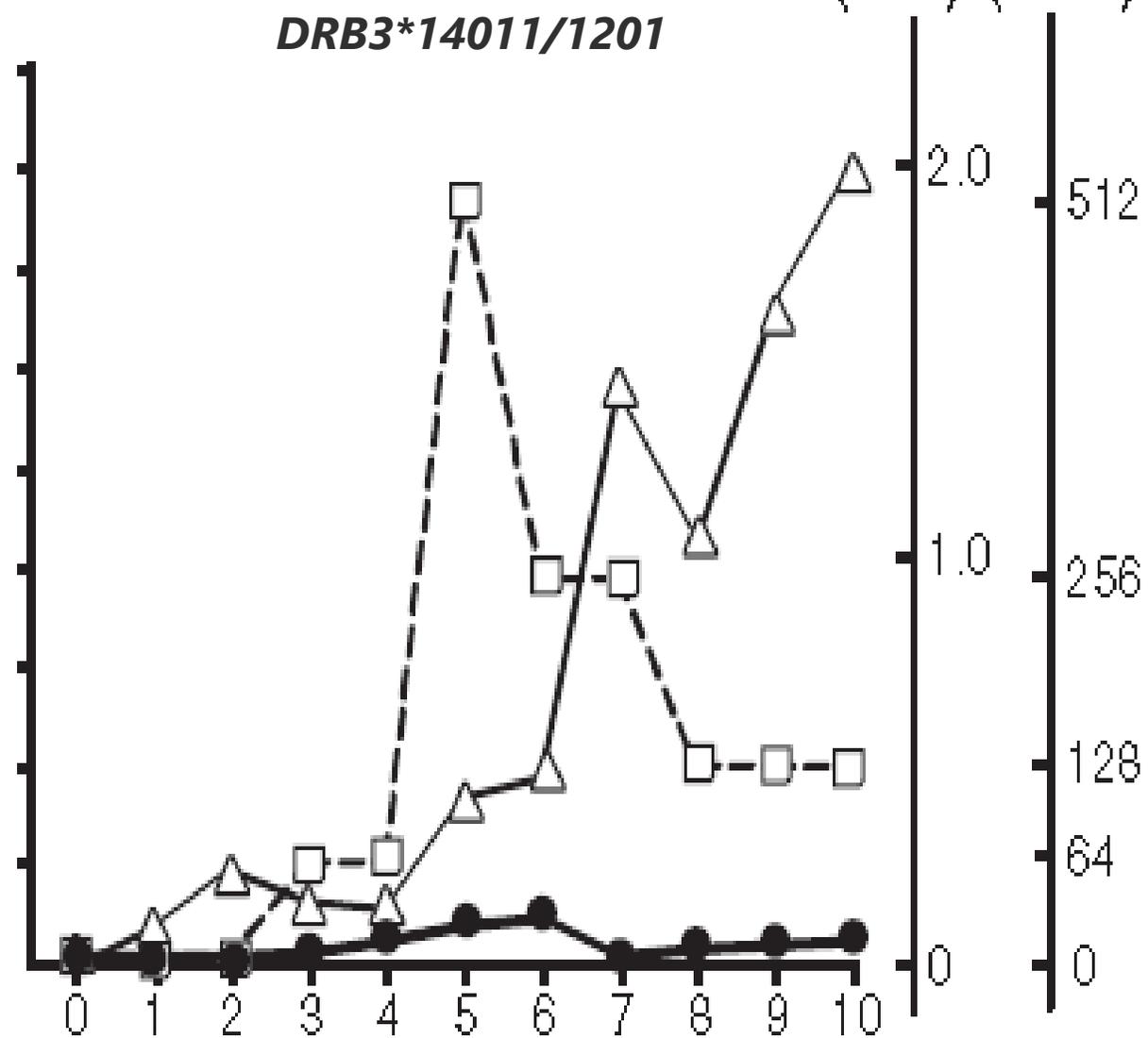
El gen BoLA-DRB3 ha sido correlacionado con rasgos cuantitativos como producción de leche, proteína y grasa en leche; el polimorfismo del segundo exón del gen de este complejo, se han relacionado con resistencia a enfermedades tales como brucelosis, leucosis y mastitis.

SK576

*DRB3\*0101/1201*

Week after inoculation

SK577

*DRB3\*14011/1201*ELISA PHA  
(S/P) (Titer)

## Introducción

El complejo mayor de histocompatibilidad II (CMH II) ha sido asociado con producción de leche, proteína y grasa en leche y con enfermedades tales como brucelosis y mastitis y algunos polimorfismos en el gen BOLA-DRB3.2 se han relacionado con resistencia al Virus de la Leucosis Bovina (VLB).

Este es altamente polimórfico, han reportado 107 alelos que codifican elementos funcionales de restricción, proceso mediante el cual un linfocito puede reconocer un antígeno como propio o extraño. En Panamá se han desarrollado trabajos de caracterización genética de las razas Guaymí y Guabalá por lo que la posibilidad de encontrar alelos del gen BOLA-DRB3.2 y su utilización en programas de conservación y mejoramiento genético son de gran importancia. El objetivo de este trabajo fue validar un protocolo de amplificación y secuenciación del segundo exón del gen BOLA-DRB3.2 en poblaciones bovinas Guaymí y Guabalá para realizar estudios de caracterización en Panamá (Figura 1).



Figura 1. Imagen de bovino Guaymí, del proyecto de conservación y uso de razas localmente adaptadas en Panamá tomada en la finca El Coco de Penonomé.

## Materiales y Métodos

Se realizó un muestreo aleatorio de 11 bovinos Guaymí (GY) y 11 Guabalá (GUA). El protocolo de extracción consistió en un método en microtubos de 250ul. La amplificación del segundo exón del gen BOLA-DRB3.2, se realizó en un equipo de PCR, mediante un protocolo semi-automatizado. En las reacciones se utilizaron los oligonucleótidos: HLO30, HLO31 y HLO32.

Los productos de PCR fueron resueltos en un analizador de fragmentos automatizado. Una vez verificado el tamaño de los fragmentos de 296bp, fueron sometidos a un proceso de purificación, cuantificación y validación de la calidad de amplicones en un analizador de fragmentos de alta resolución mediante el Kit DNF-915 dsDNA (Figura 2).

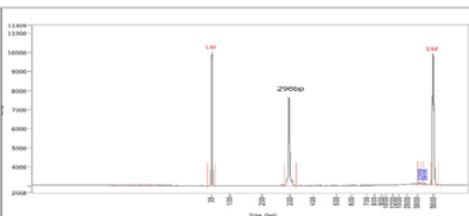


Figura 2. Patrón Electroforético de amplicón del segundo exón del gen DRB3 del CMH II.

Se tomaron 15 fragmentos amplificados de mejor calidad para ser secuenciados utilizando un ABI 3500 (Figura 3). Las secuencias obtenidas se editaron y alinearon en los programas BioEdit y MEGA 7 y analizadas utilizando el programa BLASTn del NCBI. La secuencia de referencia utilizada fue el gen del segundo exón del Antígeno Leucocitario Bovino CMH II, depositado en Genbank, #JN887487.1



Figura 3. Secuenciación SANGER de los fragmentos de BoLA-DRB3.2 utilizando el kit BigDye® Terminator v1.1 mediante un equipo ABI 3500 de Applied Biosystems.

## Resultados

La Figura 4 muestra los fragmentos 296bp correspondientes al segundo exón del gen BoLA-DRB3.2 de las poblaciones Guaymí (24, 25 y 27) y Guabalá (37, 38 y 41); a la extrema derecha se presenta el marcador de pares de bases (M).

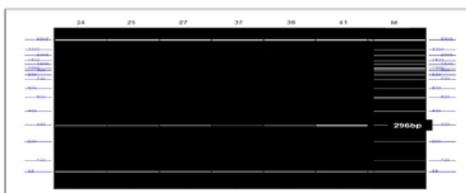


Figura 4. Electroforesis de amplicones de PCR de 296bp correspondiente al segundo exón del gen BoLA-DRB3.2; 24, 25 y 27; Bovino Guaymí; 37, 38 y 41 Bovino Guabalá y M marcador de pares de bases, mediante analizador de fragmentos.

El tamaño de fragmento reportado en el presente trabajo (296bp) es menor a los reportados por Maillard *et al.* (1999) y Maillard *et al.* (2003) quienes obtuvieron tamaños de fragmentos de 304bp en estudios similares de razas Cebú de la isla de Martinica; Behl *et al.* (2007).

Por otro lado, fragmentos con diferencia de 12bp respecto a los resultantes en el presente trabajo reportan otros autores tales como Paswan *et al.* (2005) trabajando con bovinos; Parnian *et al.* (2006) en ganado Holstein; Portillo *et al.* (2006) con ganado criollo en México, Pashmi *et al.* (2007) con ganado Holstein, Tamoospur *et al.* (2007) y Sadeghi *et al.* (2008) en ganado Sistani de Irán, Oprzadek *et al.* (2011) en ganado Holstein de Polonia.

Cabe destacar que en los trabajos arriba citados se utilizaron los mismos juegos de cebadores que en el presente trabajo (HLO30, HLO31 y HLO32). Con este resultado se permitió avanzar en la secuenciación del fragmento del segundo exón del gen BoLA-DRB3.2.

```
>43_GUAB_SANGER
GGGAGAGAGTTCGTGCGCTTCGACAGCGAGTGGGGCGAGTTA
CGGGCGGTGACCGAGCTAGGGGGCGGGCGGACCGGAGTACT
GGACAGCCAGGAGACTGGAGCGGGCGGGCGCGCGGGTGG
ACACCGTACTGGAAGACACACTACGGGGCGGTGAGAGTT
TGCAGTGTGACGGCGGAGGTGAGCGCGAATTTAAAAA
```

Figura 5. Secuencia del Alelo del gen BoLA-DRB3.2 obtenido mediante metodología Sanger de bovino criollo Guabalá en el presente trabajo.

Se tomaron 22 amplificados de las muestras con mejor calidad para realizar la secuenciación. Los resultados obtenidos en BLASTn presentaron identidad con el segundo exón del gen BoLA-DRB3.2 (figura 5) que oscilaron entre 87 y 98%, en cuanto al número de pares de bases (bp), estas oscilaron entre 148 y 239 y valores máximos (MAX SCORE) de 165 a 339. Del total de amplificados se obtuvieron 17 diferentes alelos secuenciados. Los más frecuentes fueron \*0101 (18%), \*R-73 (18%) y \*1801 (9%).

Cuadro 1. Valores de tamaño de pares de bases (bp), valor máximo, valor de probabilidad (e-value) y porcentaje de identidad (%) de alelos de las razas Guaymí y Guabalá.

RAZA GUABALÁ	bp	Valor Máximo	e-value	% Identidad
*0101	181	276	1.0E-70	95
*0201	176	224	5.0E-55	91
*1801	196	302	2.0E-76	96
*3001	206	300	1.0E-77	96
*R-08	197	278	4.0E-71	93
*R-121	211	302	3.0E-78	93
*R-142	208	329	1.0E-86	95
*R-177	209	311	5.0E-81	94
*R-194	205	309	2.0E-80	95
*R-21	210	324	6.0E-85	95
*R-73	212	302	3.3E-67	93
RAZA GUAYMÍ				
*0101	208	321	6.7E-81	95
*1101	219	294	5.0E-76	93
*1104	148	165	3.0E-37	87
*3601	215	285	3.0E-73	93
*R-09	224	278	5.0E-71	91
*R-73	195	281	3.0E-72	95

El Cuadro 1 muestra los valores para cada población obtenidos en BLASTn donde se observó que la raza Guabalá presentó la mayor diversidad de alelos (11) en relación con la Guaymí (6). Los alelos más abundantes en la raza Guabalá fueron, \*R-73 (21%) y el \*1801 (14%) y en la raza Guaymí fue el \*0101 (38%). En cuanto a alelos compartidos, se observó que ambas razas comparten los alelos, \*0101 y \*R-73. En cuanto al porcentaje de identidad, en la Guabalá osciló entre 90 y 97%, el bp entre 176 y 214 y el Max Score entre 224 y 329, respectivamente. En ese mismo orden, la raza Guaymí obtuvo porcentajes de identidad entre 87 y 98%, valores de bp entre 148 y 239 y Max Score entre 165 y 339.

## Conclusiones

- Se logró amplificar y secuenciar el exón 2 del gen BoLA-DRB3 en razas Guaymí y Guabalá con lo cual se podrán realizar estudios de diversidad genética y estudios de selección asistida por marcadores.
- Se recomienda incrementar el número de individuos por población e incluir otras razas como Senepol y Brahman como razas localmente adaptadas además de las Guaymí y Guabalá.

## Literatura citada

- BEHL, J., N. K. VERMA, R. BEHL, M. MUKHESHI, AND S. P. S. AHLAWAT. 2007. Characterization of Genetic Polymorphism of the Bovine Lymphocyte Antigen DRB3.2 Locus in Kankrej Cattle (*Bos indicus*). *J. Dairy Sci.* 90:2997-3001 doi:10.3168/jds.2006-547.
- MAILLARD, J. C., RENAARD, C., CLARDON, P., CHANTAL, Y., AND BENSABD, A. 1999. Characterization of 18 new BoLA-DRB3 alleles. *Anim. Genet.* 30:200-203.
- MAILLARD, J. C., D. BERTHIER, I. CHANTAL, S. THEVENON, I. SIDIBE, F. STACHURSKI, D. BELLEMSAGA, H. RAZAFINDRAHE, Y. J. M. ELSÉN, 2003. Selection assisted by a BoLA-DRB3 haplotype against susceptibility to bovine dermatophilosis. *Genet. Sel. Evol.* 35 (Suppl. 1) (2003) S193-S200.
- OPRZADEK, J., P. URZYNOWSKI, G. SENDLER, A. PAWLIC AND M. LUKASZEWICZ. 2012. Frequency of BoLA-DRB3 alleles in Polish Holstein-Friesian cattle. *Animal Science Papers and Reports vol. 30* (2012) no. 2, 91-101.
- PARNIAN, M., S. ALI GHORASHI, A. SALEHI, M. PASHMI, M. REZA MOLLASALEHI. 2006. Polymorphism of bovine lymphocyte antigen DRB3.2 in Holstein bulls of Iran using PCR-RFLP. *IRANIAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, Vol. 4, No. 3, July 2006.
- PASHMI, M., QANBARI, S., GHORASHI, S., SALEHI, A. 2007. PCR based RFLP genotyping of bovine lymphocyte antigen DRB3.2 in Iranian Holstein population. *Pakistan Journal of Biological Science* 10(3): 383-387, 2007.
- PASWAN, C., B. BHUSHAN, B. N. PATRA, P. KUMAR, A. SHARMA, S. DANDAPAT, A. K. S. TOMAR AND T. DUTT. 2005. Characterization of MHC DRB3.2 Alleles of Crossbred Cattle by Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2005, Vol 18, No. 9: 1226-1230.
- PORTILLO, M., J. G. RIOS RAMÍREZ, G. ROSA, F. RODRÍGUEZ. 2006. Secuenciación de nuevos alelos BoLA-DRB3.2 detectados en ganado Criollo mexicano. *Téc. Pecu. Méx* 2006; 44(1):15-25.
- TAMMOOESPUR MOJTABA, MOHAMMAD REZA, NASSIRY, MOHSEN FATHI, NAJARI AND SHAHROOHI GHOUVATI. 2007. Genetic Polymorphism at the Candidate Gene in Iranian Sistani Cattle (*Bos indicus*). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10: 3368-3373.
- SADEGHI, B., M. NASSIRY, M. HEYDARPOUR, F. SHAHROUDI, J. MOSAFER, A.S. MOTLAQH. 2008. Characterization of genetic polymorphism of Bovine Lymphocyte Antigen DRB3.2 Locus in Sistani Cattle of Iran (*Bos indicus*). *Biotechnology* 7 (2): 333-337, 2008.

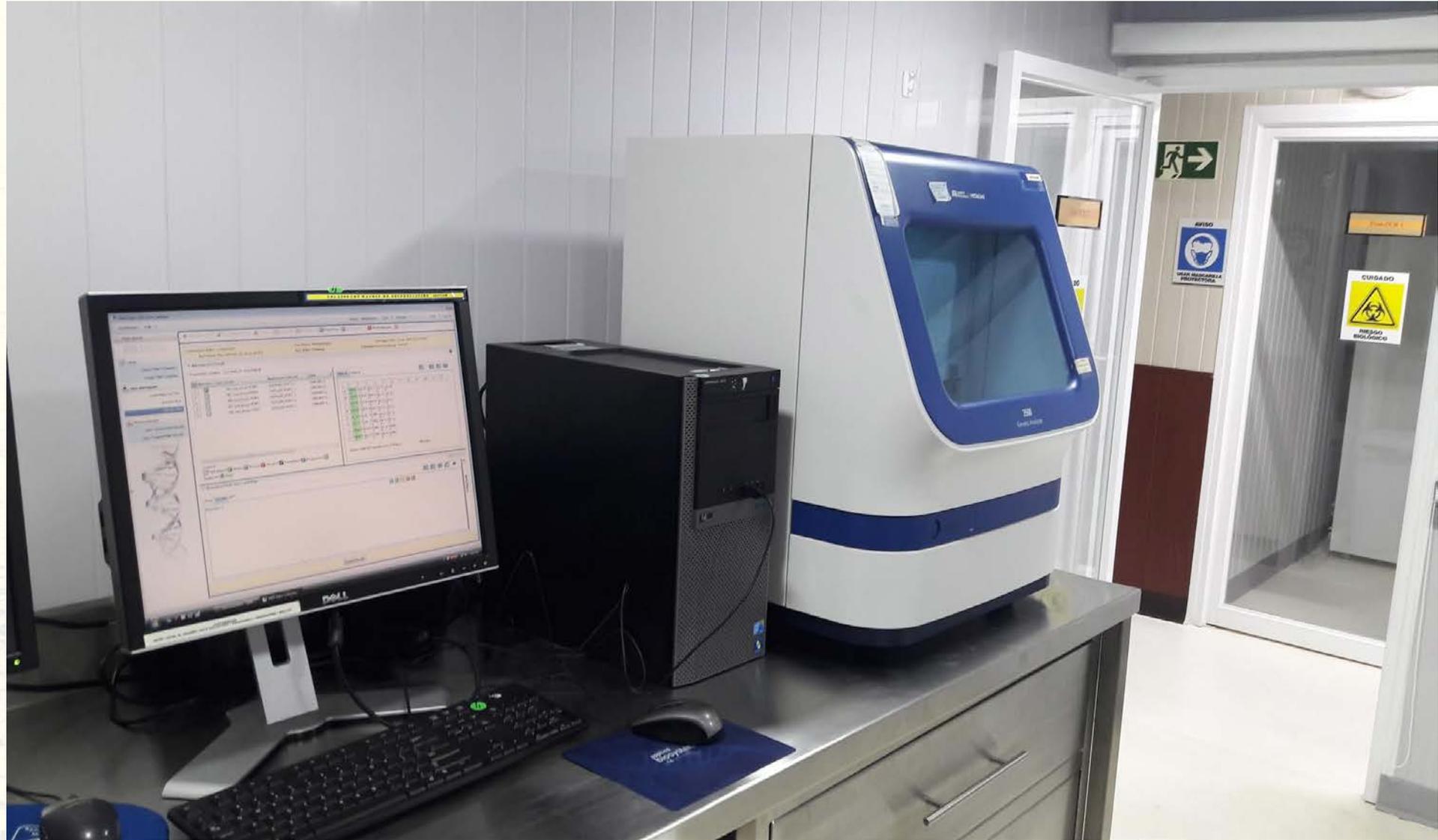
## Agradecimientos

Al Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAAP) mediante el Proyecto Conservación y Uso del Bovino Criollo Guaymí y Guabalá de Panamá y Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología mediante el Sistema Nacional de Investigación por el financiamiento del presente trabajo. Al Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses por la colaboración dentro del convenio establecido con IDIAAP.

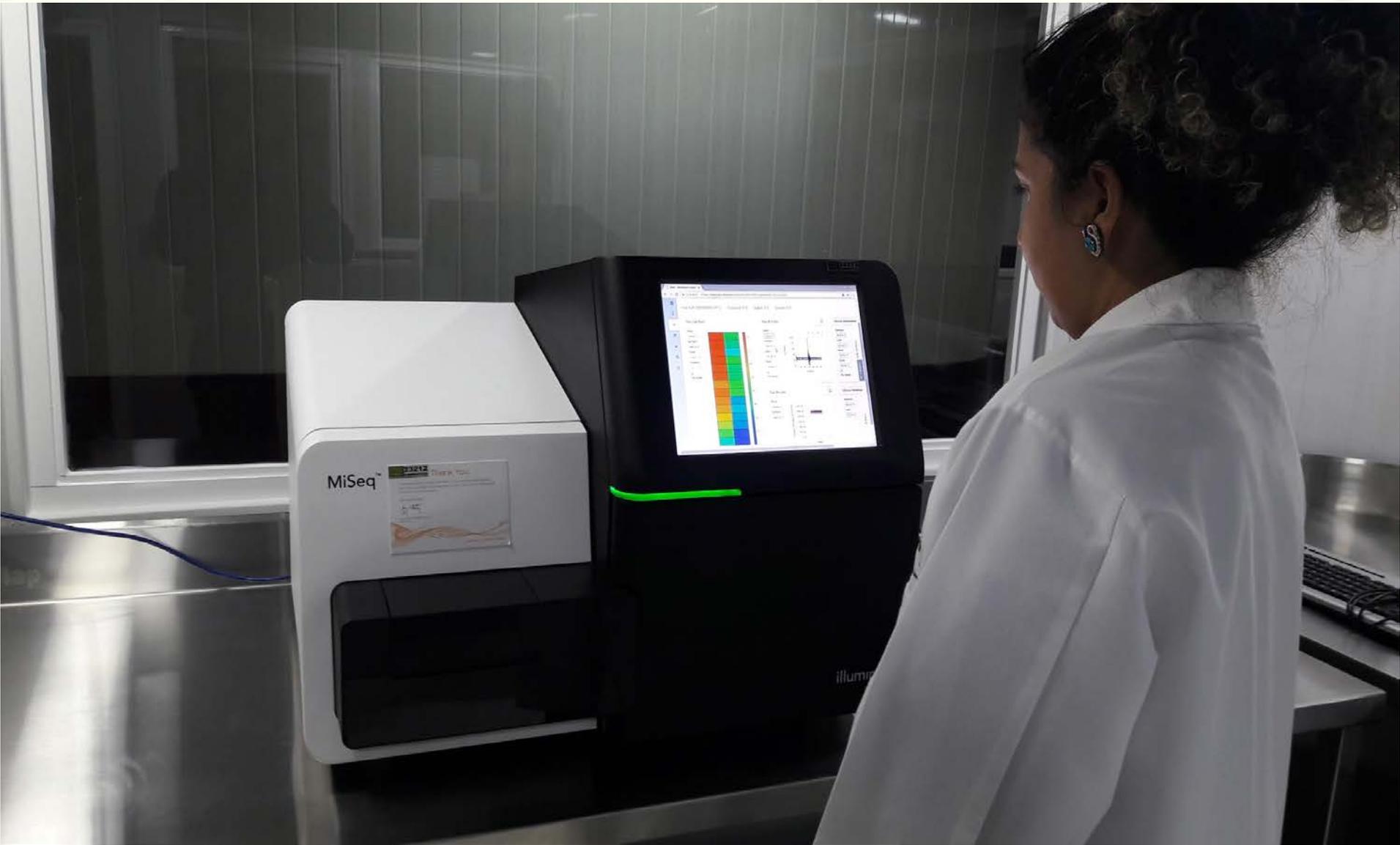
## Para mayor información

Favor contactar a Axel Villalobos Cortés, en el Laboratorio de Análisis y Biología Molecular Aplicada, LABMA, Clayton, ciudad del Saber edif. 221. E-mail: villalobos.axel@gmail.com

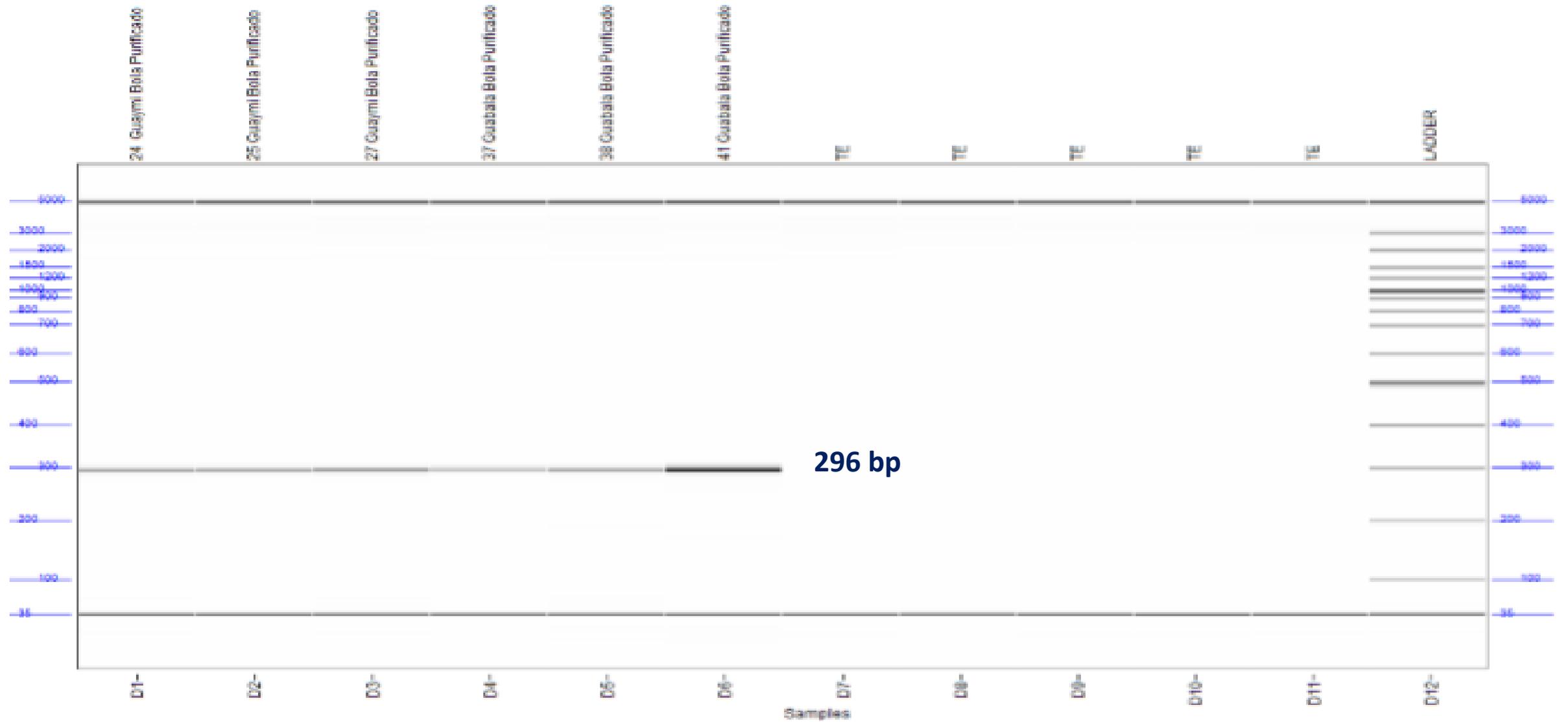
Se realizó secuenciación **SANGER** de los fragmentos se llevó a cabo utilizando el kit BigDye® Terminator v1.1 mediante un equipo ABI 3500 de Applied Biosystems



Además se realizó secuenciación NGS mediante un equipo MiSeq™ de ILLUMINA® utilizando protocolo *Nextera XT DNA Library Prep Kit*



## Gel Image



# TABLA RESUMEN DE DATOS DE SECUENCIACIÓN NGS VS SANGER DEL GEN BOLA-DRB3 DE BOVINOS GUAYMÍ Y GUABALÁ

Nº	ID	ALELO	bp	MAX SCORE	E VALUE	IDENT	ACCESSION
1	GY13F	2902	270	483	1.00E-132	99	AB554654.1
2	GY13R	3001	262	484	3.00E-133	100	AB523833.1
2	GY15F	0801	270	488	2.00E-124	100	AY271221.1

## VARIABLES BLAST

## NGS

## SANGER

bp

268.6a

196.7b

MAX SCORE

472.2a

272.8b

E VALUE

3E-120

3E-38

IDENT

98.8a

93.1b

21	GUA50F	0101	181	276	1.00E-70	95	AJ487839.1
22	GUA47R	R-73	209	263	1.00E-66	90	AY817103.1
23	GUA46R	R-21	210	324	6.00E-85	95	AY817100.1
24	GUA46F	R-08	197	278	4.00E-71	93	AY826406.1

# ALELO DEL GEN BoLA-DRB3.2 OBTENIDO MEDIANTE METODOLOGÍA SANGER

>43\_GUAB\_SANGER

GGAGAAGAGTTCGTGCGCTTCGACAGCGACTGGGGGCGAGTTACCGGGGCGGTG  
ACCGAGCTAGGGGCGGGCCGGACGCCGAGTACTGGAACAGCCAGGAGACTGGA  
GCGGGGCGCGGGCGCCGCGGTGGACACCGTCACTGGAAGACACA AACTACGGGGG  
CGTGGAGAGTTTGC ACTGTGCAGCGGCGAGGTGAGCGCGAATTTAAAAA

IDENTIDAD	95%
E-VALUE	2e-80

# ALELO DEL GEN BoLA-DRB3.2 OBTENIDO MEDIANTE NGS

>43\_GUAB\_NGS

CAGTGAAACTCTACCGACCCCGTAGTTGTGTCTGCAGTACGTGTCCACCGCGGC  
CCGCGCCCGCTCCAGGAAGTCCTTCTGGCTGTTCCAGTACTCGGGCGTCCTGCCGC  
CCCAGCTCGGTCACCGCCCGGAACTCGCCCCAGTCGCTGTCGAAGCGCACGGTC  
TCTTCTCCATTAGTGTAGTATCTGTCCAGGAACCGCACCCGCTCGGTCCCGTTGAA  
GAAATGACACTCGCTCTTAGAATACTCCAGGAAATGTGCTGCAG

IDENTIDAD 99%

E-VALUE 1e-127

# PCR de MICROSATELITES



**MICROSATELITE**

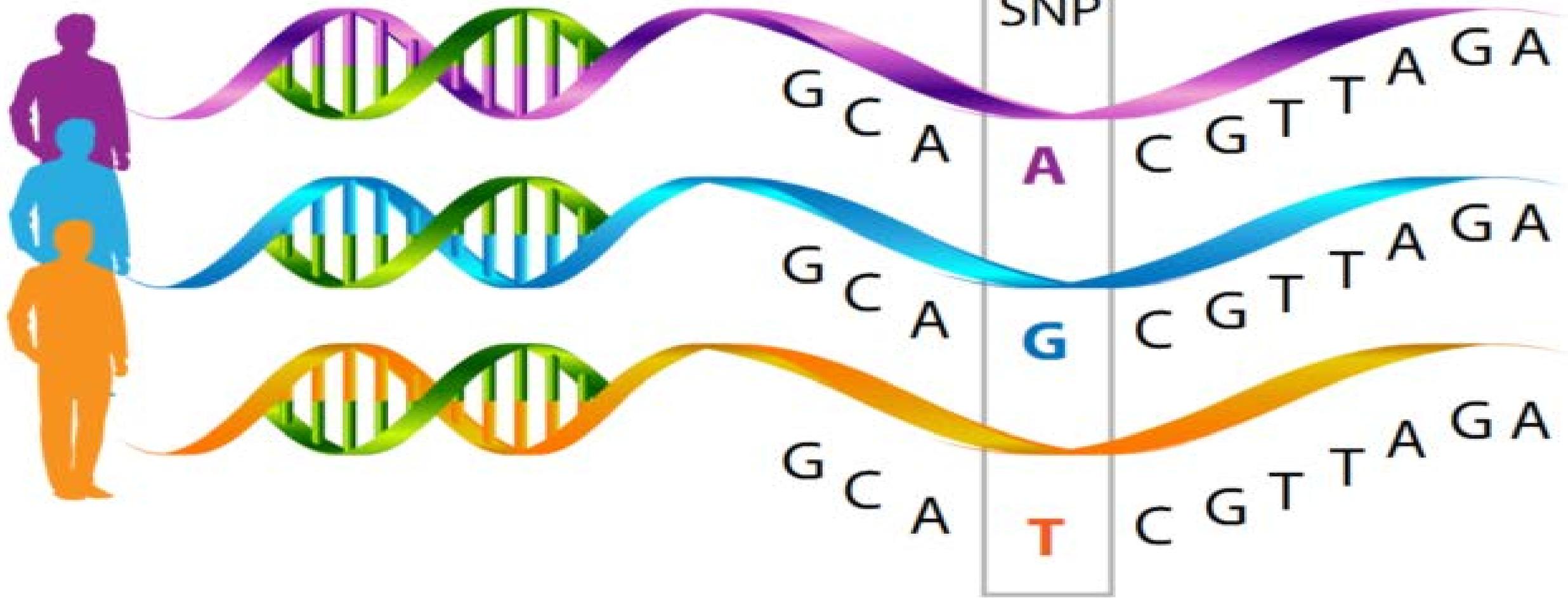
Partidor 1

Partidor 2



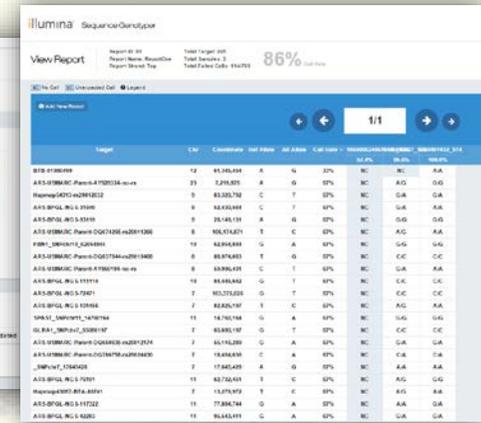
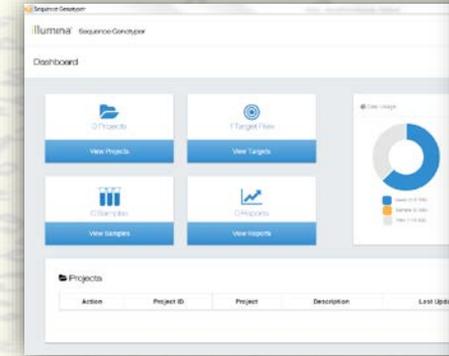
Marcadores genéticos: Identidad, medico legal, paternidad, etc

*Handwritten text at the top of the page, partially obscured and mirrored.*



*Handwritten text at the bottom left of the page.*

# Introducción al Kit Truseq Bovine Parentage



View Report

Report ID: 88  
Project Name: Resonance  
Report Status: Top

Total Target: 604  
Total Sequences: 2  
Total Paired Reads: 1424128

86% Total Data

Target	CP	Coverage	Ref Reads	Alt Reads	CP Error	CP Error %	CP Error	CP Error %
BIB_0100000	12	61,245,84	A	0	0%	NC	NC	AA
AAS_0100000:Paired-A_70033A-aa-aa	23	2,216,871	A	0	0%	NC	AG	DG
Paired-A_0100000:0100000	0	83,307,70	C	T	0%	NC	GA	GA
AAS_0100000:0100000	0	6,620,046	C	T	0%	NC	GA	AA
AAS_0100000:0100000	0	20,148,131	A	0	0%	NC	GA	DG
AAS_0100000:Paired-D_007400-aa001000	8	106,014,871	T	C	0%	NC	AG	AA
F001_0100000:0100000	19	62,916,849	G	A	0%	NC	GG	GG
AAS_0100000:Paired-E_0100000:0100000	0	66,974,280	T	0	0%	NC	CC	CC
AAS_0100000:Paired-F_0100000-aa-aa	0	6,620,046	C	T	0%	NC	GA	AA
AAS_0100000:0100000	18	64,486,442	G	T	0%	NC	CC	CC
AAS_0100000:0100000	7	10,373,828	G	T	0%	NC	CC	CC
AAS_0100000:0100000	7	66,974,280	T	0	0%	NC	AG	AA
0100000_0100000:0100000	19	14,761,148	G	A	0%	NC	GG	GG
AAS_0100000:0100000	7	65,486,197	G	T	0%	NC	CC	CC
AAS_0100000:Paired-G_0100000-aa001000	7	65,116,289	G	A	0%	NC	GA	AA
AAS_0100000:Paired-H_0100000:0100000	7	19,416,639	A	0	0%	NC	CA	DA
0100000_0100000	7	17,662,489	A	0	0%	NC	AA	AA
AAS_0100000:0100000	16	62,732,443	T	C	0%	NC	AG	CC
Paired-A_0100000:0100000	7	13,076,979	T	C	0%	NC	AG	AA
AAS_0100000:0100000	19	77,886,744	G	A	0%	NC	AA	GA
AAS_0100000:0100000	19	94,453,111	G	A	0%	NC	GA	GA

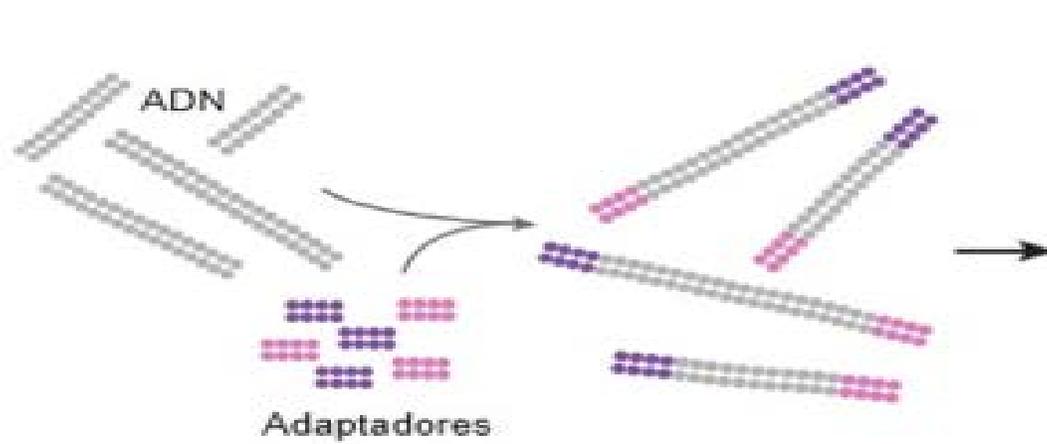
PREPARACIÓN  
DE LIBRERÍAS



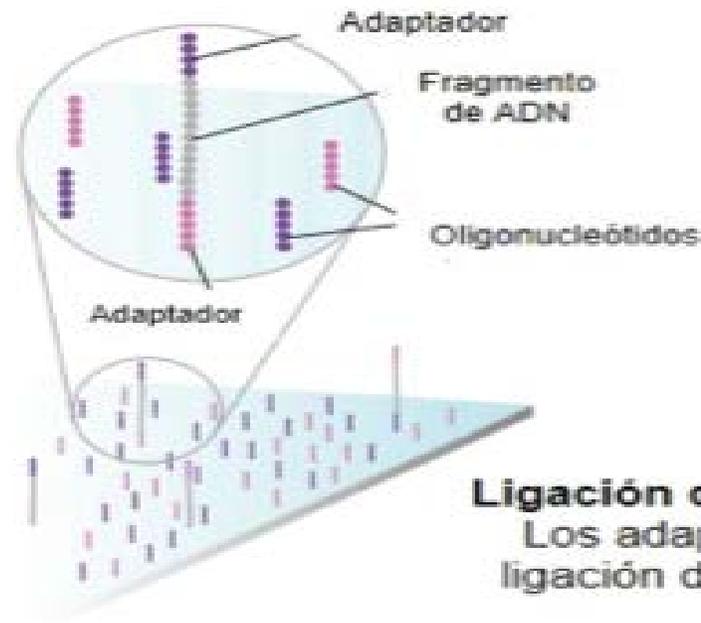
SECUENCIACIÓN  
EN EQUIPO  
MISEQ



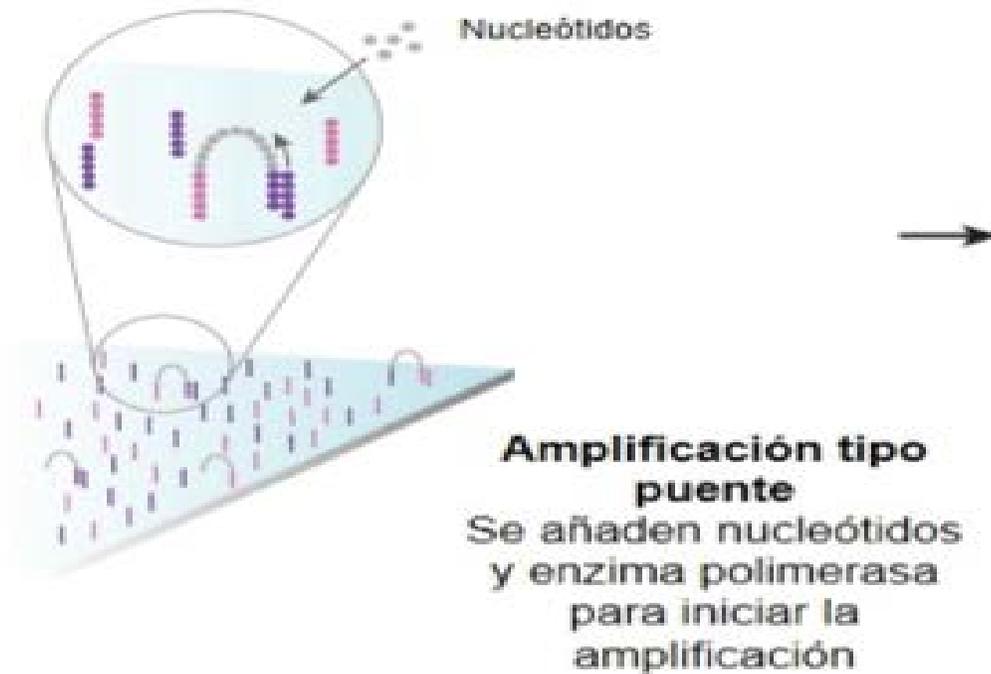
ANÁLISIS DE DATOS  
MEDIANTE  
SOFTWARE  
Sequence Genotyper



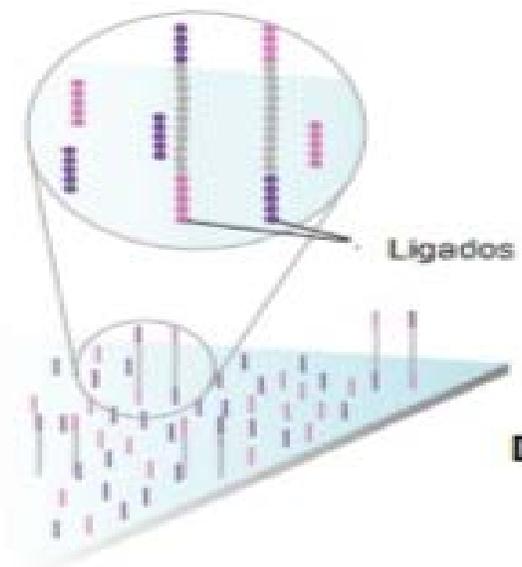
**Preparación de ADN genómico**  
 Adaptadores son ligados a los extremos del ADN



**Ligación de ADN a la superficie**  
 Los adaptadores ayudan a la ligación del ADN a la superficie

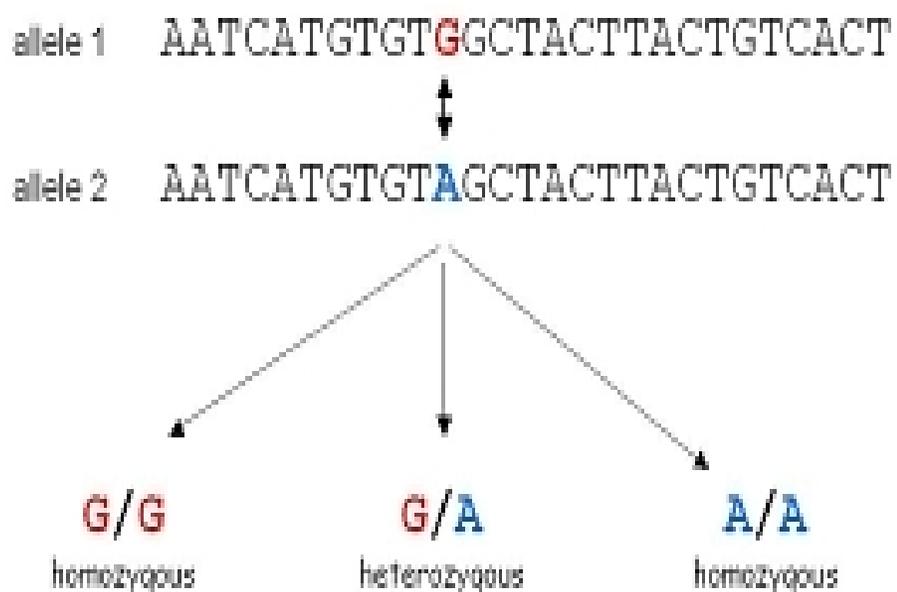


**Amplificación tipo puente**  
 Se añaden nucleótidos y enzima polimerasa para iniciar la amplificación



**Desnaturalización**

# Contenido del Panel



Descripción	N.º de SNP
<b>SNP utilizados para evaluación de linajes</b>	
Dianas de SNP principales de la ISAG	100
Dianas de SNP adicionales de la ISAG	100
<b>Dianas variantes asociadas a enfermedades/trastornos genéticos</b>	
Trastornos mortales prenatales/perinatales (HH1, HH3, HH4, MH1, etc.)	12
Trastornos mortales postnatales/en adultos (citrulinemia, distonía muscular congénita, cardiomiopatía, mioclonía, etc.)	17
Trastornos no mortales (síndrome de Marfan, raza Mulefoot, protoporfiria, hemofilia A, etc.)	19
<b>Dianas variantes asociadas a razas económicamente valiosas</b>	
Fertilidad en machos	1
Crecimiento y aspecto	4
Calidad de la carne	4
Calidad de la leche	6
<b>Número total de dianas de SNP/variantes</b>	<b>263</b>



	36		90		213		225		229		230	
	DGAT1_1	DGAT1_2	GH1_1	GH1_2	LALBA_1	LALBA_2	ABCG2_1	ABCG2_2	CSN1S1_1	CSN1S1_2	CSN1S2_1	CSN1S2_2
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	A	G	A	G
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	G	G	A	A
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	A	A	G	G
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	G	G	G	G
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	A	G	A	G
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	G	G	A	A
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	A	G	A	G
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	C	C	C	C	A	G	G	G
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	A	G	G	G
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	G	G	A	A
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	A	G	A	G
BRAH	A	G	G	G	C	C	C	C	G	G	A	G
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	G	G	A	A
BRAH	A	A	G	G	C	C	C	C	A	G	G	G
HO	A	G	G	G	C	C	C	C	G	G	G	G
HO	A	G	G	G	C	C	C	C	G	G	G	G
HO	G	G	G	G	C	C	C	C	G	G	G	G
HO	G	G	G	G	C	C	C	C	G	G	G	G
HO	A	G	G	G	C	C	C	C	G	G	G	G
?	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
?	A	A	G	G	C	C	C	C	G	G	G	G
?	A	G	G	G	C	C	C	C	G	G	A	G
1/2 BF X 1/2BR	A	A	G	G	C	C	C	C	A	G	A	G
1/2 A X 1/4 BF 1/4 BR	A	G	G	G	C	C	C	C	G	G	A	G
SEN X HO	G	G	G	G	C	C	C	C	G	G	G	G
MONT X HO	G	G	G	G	C	C	C	C	G	G	G	G

Las Indias con los vecinos de las de España y obispos  
... de ...

... una ...

... los ... de ...

# SNP's y Desórdenes Genéticos

... de ...

... de ...

GENOTIPO	SINDACTILIA		ABORTO		MICROFTALMIA		CVM HO		DESORDEN FOLICULO		OJO ROSA	
	LRP440_1	LRP440_2	MH1_1	MH1_2	MITF89_1	MITF89_2	SLC35A3_1	SLC35A3_2	KRT74_1	KRT74_2	PE_1	PE_2
BRAH	G	G	G	G	A	T	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	T	T	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	T	T	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	A	T	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	A	T	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	A	A	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	A	T	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	A	A	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	T	T	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	T	T	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	A	T	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	A	T	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	T	T	C	C	G	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	A	A	C	C	A	G	G	G
BRAH	G	G	G	G	T	T	C	C	G	G	G	G
HOLSTEIN	A	G	G	G	T	T	C	C	G	G	G	G
HOLSTEIN	G	G	G	G	T	T	C	C	G	G	A	A
HOLSTEIN	A	G	G	G	T	T	C	C	G	G	A	A
HOLSTEIN	G	G	G	G	T	T	C	C	A	G	A	A
HOLSTEIN	G	G	G	G	T	T	C	C	G	G	A	A
MONT X HO	G	G	A	G	A	T	A	C	A	G	A	A

# 6 DESÓRDENES GENÉTICOS ENCONTRADOS

- SINDACTILIA: gen LRP4 lipoproteínas de baja densidad de receptores relacionados con la proteína 4
- ABORTO MH1: Letalidad embrionaria en Montbeliard
- MICROFTALMIA: Factor de transcripción asociado a microftalmia MITF
- CVM HOLSTEIN: Complejo De Malformación Vertebral gen SLC35A3 en Holstein
- DESORDEN DEL FOLICULO: gen KRT74, hipotricosis, pelo lanoso
- OJO ROSA: predisposición genética a adquirirla

# **AGRADECIMIENTO A...**

**Carmen Bieberach, Rita González Herrera,  
Marcelino Jaén Torrijos, Selma Franco  
Schafer, Lissy Ávila Rodríguez, Manuel  
Murillo, Diomedes Trejos.**

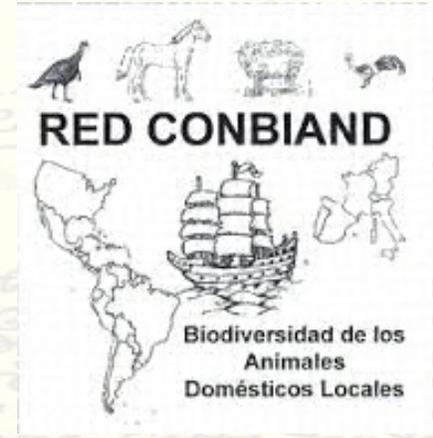




UNIVERSIDAD  
DE  
CÓRDOBA



SENACYT  
Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación



RED CONBIAND

Biodiversidad de los  
Animales  
Domésticos Locales



REPUBLICA DE PANAMA  
MINISTERIO PUBLICO

INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES

# BIOBOVIS Consortium

" Lo que nosotros tenemos que practicar hoy, es la solidaridad. No debemos acercarnos al pueblo a decir: Aquí estamos. Venimos a darte la caridad de nuestra presencia, a enseñarte con nuestra presencia, a enseñarte con nuestra ciencia, a demostrarte tus errores, tu incultura, tu falta de conocimientos elementales". Debemos ir con afán investigativo, y con espíritu humilde, a aprender en la gran fuente de sabiduría que es el pueblo "

Ernesto Che Guevara

