
INFORME FINAL

PROYECTO: “Caracterización productiva y conservación de ovinos criollos del Uruguay”

Líder de proyecto:

Ing. Agr. Elly Navajas

Equipo técnico:

DMV. Fernando Macedo

DMV. Florencia Pieruccioni

Ing. Agr. Gabriel Ciappesoni

Ing. Agr. Fernando Coronel

Ing. Agr. Diego Gimeno

Ing. Agr. Ignacio Aguilar

DMV. Daniel Pereira

DMV. Silvia Llambí

Ing. Agr. Olga Ravagnolo

Teniente José Novo

Dra. Beatriz Villanueva

Instituciones participantes

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

Facultad de Veterinaria

Secretariado Uruguayo de la Lana

Servicio de Parques del Ejército

MAYO 2015

ÍNDICE

Listado de anexos	ii
RESUMEN EJECUTIVO	iii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. LOGROS Y PRODUCTOS DEL PROYECTO SEGÚN OBJETIVOS	1
OBJETIVO 1: IMPLEMENTAR SISTEMA DE REGISTROS	1
OBJETIVO 2: DEFINIR EL PLAN DE CONSERVACIÓN	2
OBJETIVO 3: ESTABLECER LAS BASES DE DATOS PARA ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN	4
3. RESULTADOS GENERALES Y SOSTENIBILIDAD DE LA CONSERVACIÓN DE LOS OVINOS CRIOLLOS	5
3.1 Caracterización genética y fenotípica	5
3.2 Caracterización fenotípica y estudios de asociación	7
3.3 Conservación de los ovinos criollos	8
3.4 Formación de recursos humanos	9
3.5 Sostenibilidad de la conservación	9
4. CONSIDERACIONES FINALES	10
5. Agradecimientos	11
6. Referencias	12

LISTADO DE ANEXOS

ANEXO_01: Listas de características a medir, sistema de identificación de corderos y de sus madres y sus protocolos.

ANEXO_02: Informe de resultados de caracterización fenotípica.

ANEXO_03: Constancia CEUA.

ANEXO_04: Artículo Simposio Iberoamericano sobre conservación y utilización de recursos

ANEXO_05: Sistema SULAR adaptado (Manual)

ANEXO_06: Protocolo Extracción de ADN

ANEXO_07: Informe de resultados de Actividad III

ANEXO_08: Artículo Asociación uruguaya de producción animal (AUPA_2014)

ANEXO_09: Artículo Jornada de Agrobiotecnología

ANEXO_10: Artículo 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production

ANEXO_11: Informe describiendo metodología y su aplicación en la optimización de apareamientos.

ANEXO_12: Artículo sobre optimización de apareamientos.

ANEXO_13: Informe del consultor

ANEXO_14 A, B, C: referencia web del curso, lista de participantes, programa primer curso.

ANEXO_15 A, B, C: referencia web del curso, lista de participantes, programa segundo curso.

ANEXO_16: Informe de resultados Actividad VI.

ANEXO_17: Artículo III Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Genética.

ANEXO_18: Artículo revista El País Agropecuario.

ANEXO_19: Diapositivas presentadas en Expo Melilla

ANEXO_20: Artículo enviado al XXIV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal y XL Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal.

RESUMEN EJECUTIVO

Título del Proyecto: Caracterización productiva y conservación de ovinos criollos del Uruguay

Instituciones: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Facultad de Veterinaria, Secretariado Uruguayo de la Lana (SUL) y Servicio de Parques del Ejército (SEPAE)

País: Uruguay

Inicio: Mayo 2013

Duración: 24 meses

La conservación y la caracterización de los Ovinos Criollos del Parque de San Miguel se basan en cuatro pilares construidos con una visión sostenible de largo plazo. (1) El registro de información genealógica y de características productivas está en marcha, los protocolos están disponibles y el personal de campo ha sido entrenado. Algunas de las actividades regulares son la identificación y el pesaje de corderos recién nacidos y monitoreo de peso y condición corporal de todo el rebaño. (2) Para la implementación de un plan de conservación, se mejoraron las instalaciones en el campo y se definió un plan de apareamientos factible de ser mantenido en el largo plazo, en base a la selección de los machos menos emparentados con la hembras, pero permitiendo los apareamientos al azar. Esto se complementa con el mantenimiento del óptimo número de machos y hembras que permitan maximizar el tamaño efectivo de la población. (3) Las bases de datos genealógicos y productivos están sistematizadas e informatizadas. Los datos se ingresan, almacenan y respaldan en el SULAR, mientras que la información genómica está en los servidores de INIA. Se cuenta además con muestra de ADN en el Banco de ADN genómico Animal, con un riguroso sistema de identificación y trazabilidad de la muestra. (4) La formación y capacitación de técnicos se llevó a cabo a través de cursos de nivel de posgrado con participación de investigadores del Cono Sur, además de ser insumo fundamental para el programa de maestría de la DMV Florencia Pieruccioni. Las actividades de capacitación y consultoría a cargo de la Dra. Beatriz Villanueva (INIA-España) en las áreas específicas que engloba este proyecto fueron un aporte fundamental y que esperamos mantener en el futuro. Se realizó una intensa difusión de los resultados obtenidos en congresos nacionales e internacionales, como así también hacia la opinión pública en general (exposiciones locales, revistas técnicas de difusión masiva).

Además de construir estos pilares y consolidarlos, se generaron resultados y aportes concretos al conocimiento de la estructura del rebaño criollo e implementación de nuevas herramientas para el uso de información genómica, que pueden ser de valor para otros planes de conservación. El desempeño productivo de los ovinos criollos se destaca por una muy baja incidencia de lesiones podales, la mayoría leves (dermatitis de corta duración) y ninguna lesión compatible con pietín, siendo las cargas de parásitos gastrointestinales bajas a lo largo de todo el año y en todas las categorías. La distribución de los partos es continua, con dos épocas más marcadas. La caracterización genética de esta población muestra una elevada homocigosis en base a las frecuencias génicas de la población, cuyos valores de heterocigosidad observada y esperada indican que se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg. La consanguinidad y el parentesco molecular son superiores a los encontrados en poblaciones comerciales de Corriedale y Merino. Las determinaciones a través de ROH indican que la consanguinidad es el doble a la calculada en dichas razas poblaciones. La longitud de los ROH sugeriría que la consanguinidad es de origen lejano. Los estudios realizados muestran que se requieren densidades mayores a 50k SNP identificar ROH cortos. Se continuará con esta línea de trabajo al disponer de genotipados de muy alta densidad.

Se ha apostado a incorporar el plan de registros y de conservación en el Plan de trabajo del Área protegida en la que se encuentra el Parque Nacional de San Miguel. Los atributos productivos de interés de los ovinos criollos ameritan estudios más profundos y en ambientes más desafiantes para lograr un mejor conocimiento de las causales genéticas para su futura utilización.

1. INTRODUCCIÓN

Los ovinos criollos del Parque Nacional de San Miguel son la población más numerosa de ovinos criollos en Uruguay, cuyo origen se remonta a 1937 y que ha permanecido cerrada desde entonces. La identificación y cuantificación objetiva y sistemática de los atributos que definen la rusticidad de estos animales resultan clave desde dos puntos de vista. Por un lado, el conocimiento generado puede ser un aporte significativo a la producción ovina nacional. Además, la valorización del recurso criollo a través de sus atributos fortalecerá la importancia de la conservación de este rebaño. Desde un enfoque global, la conservación y caracterización de los recursos zoogenéticos es un componente clave para disponer de variabilidad genética para enfrentar no solo los desafíos actuales identificados, sino aquellos aún inciertos resultantes de futuras condiciones climáticas y de producción.

Se presenta a continuación el informe final del proyecto “Caracterización productiva y conservación de ovinos criollos del Uruguay”, iniciado el 9 de mayo de 2013 y con una duración de 24 meses. Este proyecto tuvo como objetivo contribuir al Plan de Acción Mundial para la conservación de recursos zoogenéticos a través del desarrollo de los pilares claves para tal iniciativa: 1) la consolidación de un sistema de monitoreo que sea sustentable (toma de registros productivos y genéticos); 2) implementación del plan de conservación del rebaño criollo; 3) construcción de bases de datos y banco de ADN que viabilicen la caracterización genética y genómica actual pero también sean insumos para estudios futuros en áreas del conocimiento que están en continua evolución; 4) formación y capacitación de técnicos e investigadores en genómica y conservación de recursos zoogenéticos.

Este informe incluye:

- a. Logros y productos alcanzados por objetivo, presentados en base a la estructura del marco lógico definido en la propuesta inicial, con sus respectivos indicadores objetivos de verificación.
- b. Discusión general de las metas alcanzadas y de la sostenibilidad de la conservación de los ovinos criollos, e iniciativas en marcha.

2. LOGROS Y PRODUCTOS DEL PROYECTO SEGÚN OBJETIVOS

OBJETIVO 1: IMPLEMENTAR SISTEMA DE REGISTROS	
Producto:	Se generó un sistema de registros productivos y genealógicos sustentable e informatizado
Actividad I.	Definición de las características a ser medidas en forma regular, sistema de identificación de corderos (y madres) y sus protocolos.
<p>Al iniciar el proyecto, se llevó a cabo una caracterización individual de todos los animales presentes, utilizando caravanas con números impresos y consecutivos, de manera que cada animal recibiera una identificación única. Simultáneamente, se determinó sexo y edad por dentición, y se midió peso individual y condición corporal.</p> <p>Este fue el punto de partida del sistema de identificación. Los animales a partir de ese momento han sido también identificados próximos al nacimiento con caravanas en la oreja derecha con números consecutivos y únicos. En base a la experiencia desarrollada durante el proyecto, se definió sumar un doble tatuaje (oreja izquierda y zona de la verija), para mantener la identificación en el caso de pérdida de caravanas.</p> <p>A su vez, se estableció y se implementó la metodología para la identificación de pares cordero-madres, lo</p>	

que ha permitido poner en marcha el registro genealógico por vía materna. La precisión del mismo fue validada por marcadores moleculares. El porcentaje de error fue de 5,8 (Macedo et al., 2014) (ANEXO_10). Asimismo, se definieron las características a ser relevadas, las cuales se determinaron mensualmente: peso y condición corporal de todo el rebaño, valoración del estado de las pezuñas, conteo de huevo por gramo en materia fecal (HPG). Por otro lado, se tomaron muestras de sangre para la extracción del ADN de los animales nacidos en este período y ecografías reproductivas cada 6 meses (ANEXO_01). Las actividades, toma de registros y muestras fue llevada a cabo de acuerdo a lo dispuesto por la Comisión de Ética en el Uso de Animales (CEUA)(ANEXO_03).

Artículos

Macedo, F.; Pieruccioni, F.; Llambí, S.; Pereira, D.; Navajas, E.A. 2014. Primeros datos sobre intervalo entre partos en hembras de la población de ovinos criollos del Parque Nacional de San Miguel, Uruguay. Actas Iberoamericanas de Conservación Animal 4, pág: 25-27.

Indicadores verificables

ANEXO_01: Listas de características a medir, sistema de identificación de corderos y de sus madres y sus protocolos.

ANEXO_02: Informe de resultados de caracterización fenotípica.

ANEXO_03: Constancia CEUA.

ANEXO_04: Artículo Simposio Iberoamericano sobre conservación y utilización de recursos zoogenéticos.

Actividad II.	Adaptación del sistema SULAR como soporte informático y capacitación del personal de campo
----------------------	--

Se logró un soporte de recolección de información que se mantiene en el tiempo, el cual se institucionalizó integrándolo en el Sistema Uniforme de Levantamiento de Registros (SULAR). El SULAR es un programa desarrollado para el ingreso de datos utilizados en las evaluaciones genéticas ovinas que se realizan en el país (www.geneticaovina.com.uy/sular.php). Este programa fue adaptado por los técnicos del SUL para su utilización en el caso particular de estos datos, cuya estructura difiere de la recolectada en las evaluaciones genéticas. El personal técnico de apoyo ha recibido la capacitación necesaria.

Luego se ingresaron los datos individuales de los animales (caravana, sexo, fecha de nacimiento y madre) como así también datos productivos (pesos, condiciones corporales y recuento de los huevos por gramo).

Indicadores verificables

ANEXO_05: Sistema SULAR adaptado (Manual)

OBJETIVO 2: DEFINIR EL PLAN DE CONSERVACIÓN

Producto:	Se conoce la estructura de la población en base a la información genómica
Actividad III.	Estimación de las relaciones de parentesco en base al genotipado del ADN extraído de muestras de sangre

Se cuenta con un total de 535 muestras de ADN de ovinos criollos que se conservan a -80 grados Celsius en el Banco de ADN de INIA Las Brujas. Las muestras de ADN están correctamente trazadas al animal de origen. Toda la información que conecta el animal, su información fenotípica, las muestras de ADN y los datos de genotipado están almacenados en el software del Banco de ADN, que es regularmente respaldado.

En este proyecto, se genotiparon 174 muestras en AgReserach, Nueva Zelanda con un panel de alta densidad de SNP (606k). Los datos fueron analizados utilizando el programa SVS Golden Helix (goldenhelix.com/SNP_Variation/SNP_Analysis_Package), el cual se encuentra disponible en INIA

Las Brujas. Con respecto a la selección de las muestras, se priorizaron todos los posibles reproductores responsables de la siguiente generación: los carneros, borregos, ovejas y borregas. Solo se excluyeron hembras que en breve serían refugadas por edad.

Se evaluó la eficacia del panel de SNP a través de los valores de call rate por SNP y por animal. Se conservaron 158 muestras y se mantuvieron 562.294 SNP. Este número de SNP y de muestras, fueron los que se tuvieron cuenta en los posteriores análisis de datos.

Con la información genómica disponible se determinaron el parentesco y la consanguinidad molecular utilizando la fórmula citada por Saura et al. (2013).

Así mismo, se estimó la consanguinidad utilizando los Tramos de Homocigosis (ROH, *Runs of homozygosity*). Este nuevo concepto fue explorado en este proyecto dado que es una herramienta para el cálculo de la consanguinidad desarrollada recientemente. El coeficiente de consanguinidad basada en ROH presenta una serie de ventajas, como por ejemplo: puede predecir el porcentaje de homocigotas en el genoma de forma más precisa, también puede capturar la homocigosis derivada de ancestros comunes muy distantes. Ofrece la posibilidad de examinar la distribución de la homocigosis a través del genoma y buscar localizaciones específicas del genoma con niveles altos de homocigosis (Karimi, 2013).

Se avanzó en la construcción de la matriz de genealogía en base a la información genómica disponible.

Artículos y presentaciones

Pieruccioni, F.; Macedo, F.; Ciappesoni, C.G; Navajas, E.A. 2014. Parentesco y consanguinidad molecular en ovinos criollos en Uruguay, en el V Congreso de la Asociación uruguaya de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay.

Pieruccioni, F.; Macedo, F.; Ciappesoni, C.G.; Navajas, E.A. 2014. Consanguinidad molecular en ovinos criollos uruguayos. VIII Jornada de Agrobiotecnología, Unidad de Biotecnología, Serie Actividades de Difusión 741, Montevideo, Uruguay.

Macedo, F.; Navajas, E.A.; Aguilar, I.; Grasso, N.; Pieruccioni, F.; Ciappesoni, G. 2014. New Parentage Testing SNP Panel of Commercial Breed will be Useful Tool for Conservation of Creole Sheep, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production, Vancouver, BC, Canadá.

Indicadores verificables

ANEXO_06: Protocolo extracción de ADN.

ANEXO_07: Informe de resultados de Actividad III.

ANEXO_08: Artículo Asociación Uruguaya de Producción Animal (AUPA_2014).

ANEXO_09: Artículo Jornada de Agrobiotecnología.

ANEXO_10: Artículo 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production.

Producto:	Se identifican opciones de conservación
Actividad IV.	Evaluación de opciones de apareamientos

Se han evaluado diferentes estrategias de apareamientos, utilizando el software del Dr. Jesús Fernández y con la colaboración de la Dra. Beatriz Villanueva de INIA España. Se ha analizado el impacto de diferente número de machos, con apareamientos al azar y apareamientos dirigidos (optimizados).

Por otro lado, se diseñaron las nuevas instalaciones con técnicos del SUL y el personal del SEPAE, para hacer correcta separación de los carneros que permita implementar la mejor estrategia de apareamiento.

Artículos

Macedo, F.; Pieruccioni, F.; Villanueva, B.; Navajas, E.A. "Uso de información genómica para optimizar apareamientos en ovinos criollos", al XXIV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal y XL Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal, Sochipa. A.G., a realizarse del 9 al 13 de noviembre de 2015 en Puerto Varas, Chile.

Indicadores verificables

ANEXO_11: Informe describiendo metodología y su aplicación en la optimización de apareamientos.

ANEXO_12: Artículo sobre optimización de apareamientos.

Producto:	Técnicos capacitados en estrategias de conservación y uso de la información genómica
Actividad V.	Trabajo con Consultor y curso de nivel de posgrado.
<p>En los meses de diciembre de 2013 y 2014 se llevaron a cabo dos cursos de posgrados denominados: “Herramientas y estrategias para la conservación de recursos zoogenéticos” y “Herramientas y estrategias para la conservación de recursos zoogenéticos II”, respectivamente.</p> <p>El primer curso fue posible con el apoyo de la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) que financió la primera visita a Uruguay de la Dra. Beatriz Villanueva de INIA-España. El segundo curso, realizado en 2014, se realizó de acuerdo a lo previsto en el proyecto y contó con la participación de investigadores de la región del Cono Sur con el apoyo financiero del PROCISUR.</p> <p>En la segunda visita de la Dra Villanueva se trabajó exhaustivamente en la puesta en marcha de varios programas de análisis de datos, así como con la optimización de los apareamientos en base la información genómica.</p> <p>Indicadores verificables</p> <p>ANEXO_13: Informe del consultor</p> <p>ANEXO_14 A, B, C: referencia web del curso, lista de participantes, programa primer curso.</p> <p>ANEXO_15 A, B, C: referencia web del curso, lista de participantes, programa segundo curso.</p>	

OBJETIVO 3: ESTABLECER LAS BASES DE DATOS PARA ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN	
Producto:	Validación de los paneles de SNP y estudios de asociación preliminares
Actividad VI	Estudios de frecuencias génicas
<p>El estudio de las frecuencias génicas implicó la caracterización de las frecuencias alélicas por medio de la mínima frecuencia alélica. Los resultados muestran un 24% de SNP fijados, lo cual puede deberse a la no consideración de este grupo genético en la definición de los SNP que integraron el chip. Por otro lado, existe una significativa proporción de SNP con baja frecuencia del alelo menos frecuente (MAF) pero aún así se identificaron casi 43% de SNP con variabilidad media a alta.</p> <p>La heterocigocidad observada y esperada media presentaron valores de 0,245 y 0,239, respectivamente. Los valores de heterocigosidad son muy similares entre sí, lo que estaría indicando que la población de ovinos criollos se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE), lo cual fue confirmado por un p-value de HWE de 0,6.</p> <p>Si bien existe una gran proporción de alelos fijados, se cuenta con un alto porcentaje de alelos polimórficos en la población de ovinos criollos estudiados.</p> <p>Artículos, presentaciones y difusión</p> <p>Stand de ovinos criollos en la Expo Melilla, por el SEPAE .Ruta 5 km 11.500 Camino La Granja, Melilla, Uruguay (www.elobservador.com.uy/noticia/303452/diversas-razas-ovinas-fueron-grandes-protagonistas-en-la-muestra-de-la-arul; www2.ejercito.mil.uy/noticia.php?idA=2633&idC=1&idSc=1)</p> <p>Exposición oral por parte de la DMV Florencia Pieruccioni, en la cuarta Exposición Internacional de Demostración en Vivo de Alimentación Animal Basada en Nueva Tecnología (Expo Melilla), presentación denominada “Descubriendo al ovino criollo”, realizada el 17 de abril de 2015, en Ruta 5 km 11.500 Camino La Granja, Melilla, Uruguay.</p> <p>Entrevista al DMV Fernando Macedo con el nombre “La Oveja Criolla: Un tesoro escondido” para la revista El País Agropecuario (Marzo 2015, Número 241; Páginas 35-37).</p> <p>Pieruccioni, F.; Grasso, N.; Macedo, F.; Ciappesoni, G.; Llambí, S.; Navajas, E.A. 2014. Estudio de la</p>	

variación genética de los ovinos criollos del Parque Nacional de San Miguel en base a información genómica, en las III Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Genética, a realizarse el 7 y 8 de mayo de 2014, en Montevideo.

Indicadores verificables

ANEXO_16: Informe de resultados Actividad VI.

ANEXO_17: Artículo III Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Genética.

ANEXO_18: Artículo revista El País Agropecuario.

ANEXO_19: Presentación realizada en Expo Melilla

Actividad VII

Análisis preliminares para caracteres reproductivos y resistencia genética a enfermedades

Se comenzó con los análisis de asociación entre los SNP y los datos de conteo de huevo por gramo. Si bien se observa cierto porcentaje de la variación aditiva los valores son muy bajos, por lo que, se seguirán recolectando muestras aumentando el número de individuos para lograr confirmar estos primeros resultados.

Se están analizando los caracteres reproductivos según lo planteado por Macedo et al. (ANEXO_04).

Artículos

Pieruccioni, F.; Macedo, F.; Correa, O.; Ciappesoni, G.; Navajas, E.A. 2015. "Estudio preliminar de asociación entre marcadores SNP y conteo de huevos por gramo en los ovinos criollos del Parque Nacional de San Miguel en Uruguay", al XXIV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal y XL Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal, Sochipa. A.G., a realizarse del 9 al 13 de noviembre de 2015 en Puerto Varas, Chile.

Indicadores verificable

ANEXO_20: Artículo enviado al XXIV Congreso de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal y XL Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal.

3. RESULTADOS GENERALES Y SOSTENIBILIDAD DE LA CONSERVACIÓN DE LOS OVINOS CRIOLLOS

3.1 Caracterización genética

Durante el presente proyecto, se inició la construcción de las bases de datos fenotípicos, genealógicos y genómicos del rebaño de ovinos criollos de San Miguel. La información relevada en estos dos años ha sido la base de la caracterización genética y productiva.

El 76% del rebaño fue genotipado con un panel de alta densidad de SNP no disponible comercialmente pero en desarrollo por el Consorcio Ovino Internacional. Los datos genómicos permitieron la caracterización genética de la población y el estudio de optimización de apareamientos con información genómica. El 24% no genotipado incluía adultos próximos a ser refugados del rebaño y corderos.

Los primeros elementos a evaluar fueron la variabilidad genética de la población y el nivel de homocigosis. Se utilizaron para ello varios parámetros genéticos. Algunos de ellos más tradicionales como la heterocigosis observada y esperada, y las frecuencias génicas a través de MAF. También se calcularon la consanguinidad y el parentesco molecular, como aporte a la caracterización genética y como base para la evaluación de estrategias de apareamiento. Se

incursionó también en el cálculo de ROH y su utilización para el cálculo de la consanguinidad, así como la evaluación de tamaño y distribución de los mismos a lo largo del genoma.

Una dificultad encontrada fue la poca disponibilidad de estudios de índole similar realizados con SNP, que permitieran la comparación con otras razas o poblaciones a nivel regional o mundial. La mayoría de los estudios fueron realizados con microsatélites y los valores de los parámetros no son comparables. La segunda dificultad fue el efecto de la densidad de marcadores sobre los resultados obtenidos en parámetros como los ROH. Este aspecto también fue analizado en este proyecto dado el acceso a una muy alta densidad de SNP, a través del chip que aún no ha sido muy utilizado.

Es de esperar que con el mayor acceso a genotipados de mayor densidad de SNP y la reducción de los costos, la aplicación de información genómica en conservación de recursos genéticos sea mayor. A los efectos del presente proyecto, generamos puntos de referencia o comparación a través de la evaluación de la mismas metodologías con los datos obtenidos del genotipado con el chip de 50k de SNP, disponibles en INIA para dos razas comerciales muy relevantes como son las razas Corriedale y Merino. A su vez, se realizaron los cálculos de ROH con el set completo de marcadores disponibles y con un subset correspondientes a los SNP existente en el panel de 50k.

Los principales resultados son:

- a) Existe una proporción elevada de SNP (28%) con frecuencias muy bajas (MAF menores a 0,01), indicadores de niveles de homocigosis elevados comparados con otros estudios realizados en las razas comerciales Corriedale o Merino (Grasso et al., 2014) o en razas españolas comerciales (Gutiérrez et al., 2011).
- b) Los valores de heterocigosidad observada y esperada son muy cercanos (0,245 y 0,239, respectivamente), y su diferencia no significativa, lo que indica que la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.
- c) No se han encontrado patrones claros de subpoblaciones dentro de la majada y la comparación por componentes principales diferencia claramente a nivel genómico los animales Corriedale, Merino y criollos, sin superposiciones entre las poblaciones.
- d) La consanguinidad y el parentesco molecular son de $0,665 \pm 0,021$ y $0,670 \pm 0,018$, respectivamente. Estos valores son mayores a los encontrados en poblaciones comerciales de Corriedale y Merino.
- e) En base a ROH de longitud mínima establecida de 150, 250, 500, 1500 y 2000 kb con 25 SNP consecutivos, el nivel de homocigosis indicado por el F_{ROH} , es de 0,3136, 0,2870, 0,2605, 0,2253 y 0,2090, respectivamente. En los estudios de comparación los valores de F_{ROH} en criollos duplican a los valores encontrados en las razas comerciales mencionadas anteriormente, las cuales son abiertas y de censo mayor.
- f) Los estudios de cálculo de ROH, con 700k y 50k SNP indican que este último no es apropiado para identificar ROH menores a 1500 kb. Con el chip de 50k SNP se obtiene una buena estimación de la consanguinidad reciente, pero en poblaciones con consanguinidad lejana, se necesitarán mayores densidades de marcadores para identificar ROH cortos.
- g) La longitud de los ROH, calculado con 700k sugiere que la consanguinidad en el rebaño de ovinos criollos es de origen lejano. Esto implica que se produjo algún evento histórico en esta población, como por ejemplo algún cuello de botella que limitó la variabilidad genética.

Los estudios realizados durante este proyecto han sido presentados en eventos científicos nacionales e internacionales. Los mismos serán profundizados y publicados en revistas arbitradas en el marco de la maestría de la DMV Florencia Pieruccioni.

3.2 Caracterización fenotípica y estudios de asociación

En este proyecto se identificaron y caracterizaron todos los animales existentes en el rebaño al inicio. Se identificaron además un total de 259 corderos, con caravana visible y doble tatuaje. En el Cuadro 1, se muestra la evolución del censo por categoría desde el inicio del proyecto en 2013 a 2015, y la diferencia expresada en porcentaje. En colaboración con el SEPAE, se ha buscado la expansión del rebaño particularmente los vientres de cría y el número de carneros para maximizar el tamaño efectivo de la población dentro de las posibilidades del área de pastoreo disponible.

Categoría	Marzo 2013	Febrero 2015	Diferencia %
Hembras > 1 año	152	177	17
Carneros	10	24	140
Corderos ≤ 1 año	10	53	430
Corderas ≤ 1 año	12	47	292
TOTAL	184	301	64

Cuadro 1. Número de animales por categoría y sexo en marzo 2013 (inicio proyecto) y en febrero 2015 (cierre proyecto), y la diferencia expresada en porcentaje

Lamentablemente en las últimas semanas en que se finalizaba este informe hubo un ataque de perros salvajes causante de una gran mortandad de animales. Dado el impacto que esto puede tener ya están siendo implementadas las siguientes medidas para recuperar lo antes posible el censo de la población:

- en base a datos de ecografía que se realizan semestralmente, hacer un seguimiento de las ovejas preñadas;
- mantener todos los carneros trabajando, para mantener lo más amplia que se pueda la variabilidad;
- posponer la definición de dos épocas de parición para el próximo servicio; y
- definir un sistema de monitoreo de nacimientos de corderos de la próxima parición para minimizar posibles pérdidas de animales al parto.

La caracterización fenotípica realizada indica la existencia en los ovinos criollos de atributos de alto interés para la producción ovina que ameritan ser analizados en mayor profundidad.

- Hubo muy baja incidencia de problemas podales en el rebaño. No se evidenciaron lesiones podales compatibles con pietín en las condiciones ambientales que se encuentran.
- Los conteos de HPG nos permiten señalar que las cargas parasitarias son bajas y existe aún respuesta a la aplicación de ciertos antihelmínticos que en la mayoría de los ovinos son de baja efectividad dada la resistencia a nivel de los parásitos. Esto indica la posibilidad de explorar la genética asociada a resistencias a nematodos y de resistencia/susceptibilidad de nematodos a antihelmínticos que en condiciones comerciales actuales son resistentes.
- Presentan una distribución de partos continua a lo largo del año, con dos épocas pariciones más marcadas. Esta información permitiría analizar más en profundidad este tipo de comportamiento y las determinantes genéticas para raza de lana en condiciones templadas. La estacionalidad de la producción ovina es una limitante para la generación de una oferta de carne constante durante todo el año.

Al momento se ha avanzado en los estudios de asociación genómica para HPG. Los resultados indican que una proporción aún baja de la varianza aditiva es explicada por los SNP. El número de registros es aún reducido, pero se seguirán recolectando muestras aumentando el número de

individuos para lograr confirmar estos primeros resultados.

Las bases de datos fenotípicas definidas e implementadas incluyen las principales características de manejo y productivas. Se desarrollaron los protocolos de medidas, las planillas de registro y se adaptó una base de datos ovinos para almacenar y respaldar toda la información recolectada. El mantenimiento del sistema de registros fenotípicos es fundamental para profundizar en las determinantes genéticas de atributos de interés para la producción ovina.

3.3 Conservación de los ovinos criollos

La conservación genética ex situ de la población fue uno de los propósitos de este proyecto. Se cuenta hoy en día con muestras de ADN de toda la población, las cuales se han integrado al Banco de ADN genómico animal en INIA Las Brujas en el cual se cuenta más de 10.000 muestras de las principales razas comerciales del país, así como de los experimentos que se están realizando en genómica ovina por INIA.

Las muestras de ADN fueron extraídas a partir de muestras de sangre y se almacenan a -80 grados Celsius. Las muestras cuentan con un sistema de identificación que permite conectar las muestras de ADN en el freezer, con la información productiva de campos, con los datos genómicos que ya se cuenta de las mismas. Esto además asegura la posibilidad de ampliar los estudios genómicos, en la medida que la información fenotípica está disponible, así como el ADN necesario para genotipar.

En esta iniciativa se ha trabajado en base a la información genómica en la elaboración de un plan de conservación in situ del rebaño. Los datos genómicos han permitido establecer la estructura de la población a través del parentesco genómico entre todos los pares de animales con esta información. Es esta información la utilizada para evaluar el impacto en la siguiente generación.

El plan de conservación propuesto a la fecha incluye:

- 1) Mantener el registro de los pares madre-cordero que permiten construir la genealogía por la vía materna.
- 2) Minimizar el impacto del censo reducido maximizando el número de carneros cada año, los cuales serán seleccionados por tener el menor parentesco promedio con las hembras.
- 3) Utilización del test de paternidad para ovinos que fue desarrollado en INIA y ya validado en los ovinos criollos de San Miguel. El costo reducido de este estudio permitirá completar la matriz genealógica.
- 4) La opción de realizar apareamientos dirigidos (optimizando apareamientos por mejor parentesco) no es aún una opción viable en las condiciones del Fuerte de San Miguel. Este sería el siguiente paso para maximizar la conservación de la variabilidad genética de la población.

3.4 Formación de recursos humanos

La formación de recursos humanos llevada adelante durante el proyecto puede considerarse a varios niveles.

a. Cursos de posgrados. Con el apoyo financiero adicional de la CSIC y del Colegio de Posgrado de la Facultad de Veterinaria se realizó un curso adicional, previo al ya planteado en el proyecto. Este curso que actuó como nivelación para el equipo técnico que asistió al mismo fue el punto de partida para los análisis realizados para la caracterización genética de la población y calculo de parámetros como consanguinidad y parentesco.

El segundo curso, llevado a cabo en 2014, fue más especializado en la utilización de la información genómica en conservación. Tuvo un importante componente de clases prácticas con análisis de datos reales que fue muy bien valorado por los participantes. En este caso la mayor parte de los asistentes fueron investigadores de la región del Cono Sur con interés específico en el tema del curso. La discusión e integración de experiencias fue muy valiosa para los que participamos del mismo.

b. Estudiante de posgrado. La DMV Florencia Pieruccioni inició en el 2014 sus estudios de maestría directamente relacionados a este proyecto, con el financiamiento de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII). Esto permitirá generar recursos nacionales formados a nivel de maestría en temas específicamente relacionado a la conservación de recursos zoogenéticos, con tecnología de punta. La documentación pertinente fue enviada con los informes de avances del proyecto.

c. Capacitación del personal del SEPAE. El personal de campo del SEPAE trabajó junto al equipo técnico en la identificación de los animales y sistema de registro regular de información. Pasará a estar a cargo del mantenimiento de las bases de datos con el apoyo del equipo de INIA. Esta información se continuará manteniendo en la plataforma del SULAR.

d. Formación del grupo técnico del proyecto. La ejecución del proyecto ha llevado a la capacitación del grupo técnico nuevas alternativas para el uso de la información genómica aplicable a la caracterización genética de recursos zoogenéticos, sean estos comerciales o criollos. Como parte de este proceso, se utilizaron otras bases de datos disponibles (razas comerciales) con las cuales se llevaron adelante estudios complementarios que fueron publicados en eventos académicos internacionales como por ejemplo:

MACEDO, F.; PIERUCCIONI, F.; NAVAJAS, E.A.; CASTELLS, D.; CIAPPESONI, G. 2014. Tramos de homocigosidad en ovinos Corriedale y Merino. V Congreso de la Asociación Uruguaya de Producción Animal, Montevideo.

De las interacciones de estudios y bases de datos de otros proyectos, fue posible generar puntos de comparación para parámetros genéticos poco difundidos aún. Así mismo fue posible validar el nuevo panel de SNP para confirmación de paternidad en ovinos, el cual será una herramienta muy valiosa el plan de conservación delineado.

3.5 Sostenibilidad de la conservación

Un elemento clave para en la sostenibilidad de la conservación de los ovinos criollos es la sinergia entre las instituciones en la puesta en marcha y mantenimiento de las actividades que permitan conservar el recurso, caracterizarlo y valorizarlo. Se partió en este proyecto de un muy buen relacionamiento entre las instituciones y que se vio fortalecido durante el desarrollo del mismo. El trabajo conjunto, las reuniones de discusión y puesta a punto, así como las actividades de difusión contribuyeron a un trabajo armónico y efectivo.

A partir de esta interacción se está trabajando actualmente para la incorporación del plan de conservación y el mantenimiento del sistema de registro diseñado dentro del Plan de Manejo del Parque Nacional San Miguel. Cabe recordar que este Parque creado por la Ley 9.718 del 29 de Octubre de 1937 a instancias del Sr. Horacio Arredondo, se ha integrado desde febrero del 2010 por decreto presidencial, al Sistema Nacional de Áreas Protegidas (SNAP) del Uruguay, con la categoría de Parque Nacional. El Parque es hoy gestionado por una comisión interinstitucional. El SEPAE participa en la administración del Parque junto a otras dependencias del Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente y del Ministerio de Turismo y Deporte.

El segundo elemento clave en la sostenibilidad es la valorización de los ovinos criollos. Por un lado, las características descritas y cuantificadas a nivel fenotípico indican la no incidencia de problemas podales ni por parásitos gastrointestinales y ciclicidad a lo largo del año. Los dos primeros atributos son de alto valor para la producción ovina ya que ambos son causas de pérdidas económicas importantes en los sistemas productivos. Ameritan estudios en mayor profundidad en ambientes que puedan representar un mayor desafío para una caracterización más extensa de la posible resistencia a estas enfermedades. A esto se suma el tercer atributo, la capacidad de generar corderos a lo largo del año, cuyas determinantes genéticas pueden brindar un mayor conocimiento de los factores genéticos actuantes.

La valorización de los ovinos criollos se ha visto reforzada al difundir el valor y uso de este recurso genético. Luego de la publicación de la entrevista al DMV Fernando Macedo y la actividad de difusión realizada por el SEPAE en la Expo Melilla, varios productores que aún conservan ovinos criollos expresaron su interés en la compra de carneros y ovejas dado el limitado de sus majadas también.

4. **CONSIDERACIONES FINALES**

La conservación y la caracterización de los ovinos criollos del parque de San Miguel están basadas en pilares que este proyecto ha construido con una visión de largo plazo, apostando la sostenibilidad de estas actividades:

1. *Registro de información genealógica y productiva.*

Se cuenta con un sistema de recolección de la información de campo sobre identidad y genealogía materna, así como de características productivas de interés. Los protocolos están disponibles y el personal de campo ha sido entrenado. Formación del personal de campo en la toma de registros regulares. Se cuenta con la balanza electrónica en San Miguel, para la toma mensual de peso a todo el rebaño, así como la identificación y el pesaje de corderos recién nacidos, por parte del personal del Servicio de Parques del Ejército.

2. *Implementación de un plan de conservación*

Se redefinieron las instalaciones en el campo y se definió un plan de apareamientos factible de ser mantenido en el largo plazo, en base a la selección de los machos menos emparentados con las hembras pero permitiendo los apareamientos al azar. Las condiciones actuales no permiten realizar apareamiento dirigido.

3. *Construcción de una base de datos y Banco de ADN*

Las bases de datos genealógicas y productivas están sistematizadas e informatizadas. Los datos se ingresan, almacenan y respaldan en el SULAR, mientras que la información genómica está en los servidores de INIA. Se cuenta además con muestra de ADN en el Banco de ADN genómico Animal, con un riguroso sistema de identificación y trazabilidad de la muestra.

4. *Formación y capacitación de técnicos*

Se realizaron cursos de nivel de posgrado en el país con participación de investigadores del Cono Sur, además de ser insumo fundamental para el programa de maestría de la DMV Florencia Pieruccioni. Las actividades de capacitación y consultoría a cargo de la Dra. Beatriz Villanueva en las áreas específicas que engloba este proyecto fueron un aporte fundamental y que esperamos mantener en el futuro.

Se ha realizado una intensa difusión de los resultados obtenidos en congresos nacionales, regionales y mundiales, como así también en el ámbito local hacia la opinión pública en general (Exposiciones locales, revistas).

Además de construir estos pilares y consolidarlos, se generaron resultados y aportes concretos al conocimiento de la estructura del rebaño criollo e implementación de nuevas herramientas para el uso de información genómica, que pueden ser de valor para otros planes de conservación.

El desempeño productivo de los ovinos criollos se destaca por:

- Presentar una muy baja incidencia de lesiones podales, la mayoría leves (dermatitis de corta duración) y ninguna lesión compatible con pietín.
- Cargas parasitarias son bajas a lo largo de todo el año y en todas las categorías, en base a conteos de HPG realizados mensualmente.
- Presentan una distribución de partos continua, con dos épocas más marcadas.

La caracterización genética de esta población muestra:

- Una alta proporción de homocigosis en base a las frecuencias génicas de la población, con valores de heterocigosidad observada y esperada estadísticamente similares, lo que indica que la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.
- La consanguinidad y el parentesco molecular son superiores a los encontrados en poblaciones comerciales de Corriedale y Merino. La determinación a través de ROH, indican que la consanguinidad es el doble a la calculada en las poblaciones abiertas mencionadas
- La longitud de los ROH sugeriría que la consanguinidad es de origen lejano.
- Los estudios realizados indican también que el chip de 50k de SNP no es apropiado para identificar ROH menores a 1500 kb. El mismo daría una buena estimación de la consanguinidad reciente, pero en poblaciones con consanguinidad lejana, se necesitarán mayores densidades de marcadores para identificar ROH cortos. Se continuará con esta línea de trabajo al disponer de genotipados de muy alta densidad.

5. **Agradecimientos**

Hacemos llegar nuestro agradecimiento a todos investigadores, técnicos y personal de apoyo cuya contribución ha sido fundamental para llevar este proyecto adelante: Lic. Pablo Peraza, Sr. Oscar Correa, Anl. Slst. Pablo Balduvino, Tec. Agr. Carlos Monzalvo, Andrea Vergara, Cra. Gabriela Molina, Federico Monroy, Fernando Noguera, Alexis Contreras y Carlos Rodríguez.

Agradecemos el financiamiento complementario que logró ampliar los alcances del proyecto: Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), Colegio de Posgrado de la Facultad de Veterinaria, Comisión de Investigación y Desarrollo Científico (CIDEC) de la Facultad de Veterinaria, Agencia Nacional de Investigación e Innovación y del Programa Cooperativo para el Desarrollo Tecnológico Agroalimentario y Agroindustrial del Cono Sur (PROCISUR) y Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII).

6. Referencias

Grasso, A., Goldberg, V., Navajas, E.A., Iriarte, W., Gimeno, D., Aguilar, I., Medrano, J.F., Rincón, G., Ciappesoni, G., 2014. Genomic variation and population structure detected by single nucleotide polymorphism arrays in Corriedale, Merino and Creole sheep. *Genetics and Molecular Biology*. 37, 2, 389

Gutiérrez, B., García, E; Suárez, A., Sánchez, J., Kijas, J., Calvo, J., 2011. Análisis de la utilidad para estudios genómicos del “Illumina Ovine SNP50BeadChip” en razas ovinas españolas. XIV Jornadas sobre Producción Animal, II, 527-529.

Karimi, Z. 2013. Runs of Homozygosity patterns in Taurine and Indicine cattle breeds. Tesis de maestría. BOKU – University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Austria.

Saura M, Fernández A, Rodríguez M, Toro M, Barragán C, Fernández A, Villanueva B. 2013. Genome-wide estimates of coancestry and inbreeding in a closed herd of ancient Iberian pigs. *PLOS ONE*, 8 (10).

SVS Golden Helix
(http://www.goldenhelix.com/SNP_Variation/SNP_Analysis_Package/index.html). Fecha última
consulta: 10/06/2014

Nombre del Responsable del Proyecto	Firma del Responsable del Proyecto
Elly Ana Navajas	