

ESTRÉS TÉRMICO EN RUMIANTES DE ORIENTACIÓN LECHERA



EQUIPO INVESTIGADOR

✘ **Coordinadores**

- + Magdalena Serrano (INIA)
- + **María Jesús Carabaño (INIA)/Juan Manuel Serradilla (UCO)**

✘ **Investigadores Participantes**

- + Jorge H. Calvo (CITA)
- + Juan José Jurado (INIA)
- + Judit Salces (Becario predoctoral, INIA)
- + **María Dolores Pérez-Guzmán y Manuel Ramón (CERSYRA Valdepeñas)**
- + Clara Díaz y Magdalena Serrano (INIA)
- + María Ángeles Pérez (UCM)
- + Antonio Molina (UCO)

✘ **Personal de apoyo**

- + Carmen González (INIA)

RTA2009-00098-00-00

- ✦ **Título:** Estudio de los polimorfismos del gen HSP90AA1 en relación a la adaptación de distintas razas ovinas a las condiciones climáticas donde se desarrollan, y su efecto sobre caracteres productivos y reproductivos

RTA2009-00098-00-00

✦ Objetivos del proyecto

- + Caracterización de los SNPs de las posiciones -660, -528, -524 y -522 de la región 5' flanqueante del gen HSP90AA1 ovino en animales de razas pertenecientes a distintas áreas climáticas y geográficas de Europa, Asia y África y en especies salvajes antecesoras de los ovinos actuales (Muflón, Argal y Urial).
- + Estudiar la posible asociación de los distintos genotipos con parámetros climáticos (amplitud térmica, temperatura media anual, humedad relativa, horas de insolación anuales, etc) y geográficos (latitud, longitud, altitud, etc).
- + Determinar las diferencias de expresión del gen HSP90AA1 en machos de raza ovina Manchega con genotipos alternativos para los SNPs estudiados en distintas condiciones climáticas del año.
- + Analizar la posible asociación entre las diferencias de expresión de los distintos genotipos analizados en el objetivo 3, con caracteres de producción lechera (cantidad y calidad de la leche en el día del control) y de producción, calidad y fragmentación del ADN espermático en momentos del año con distintas condiciones climáticas.

RTA2009-00098-00-00

× Datos

- + Secuencias del promotor del gen *HSP90AA1* en 30 animales pertenecientes a 34 razas ovinas europeas, asiáticas y africanas y parámetros climáticos de todas las aéreas donde dichas razas se desarrollan
- + Datos de expresión génica de 4 colectas de sangre bajo distintas circunstancias ambientales de 120 machos de raza Manchega. Genotipado de los 11 polimorfismos del promotor del gen *HSP90AA1* en los 120 machos en estudio.
- + Datos de 8 medidas de fragmentación de ADN espermático de 60 machos de raza ovina Manchega con genotipos alternativos para la transversión G/C₋₆₆₀ del promotor del gen *HSP90AA1* tomadas bajo distintas circunstancias ambientales a lo largo del año.

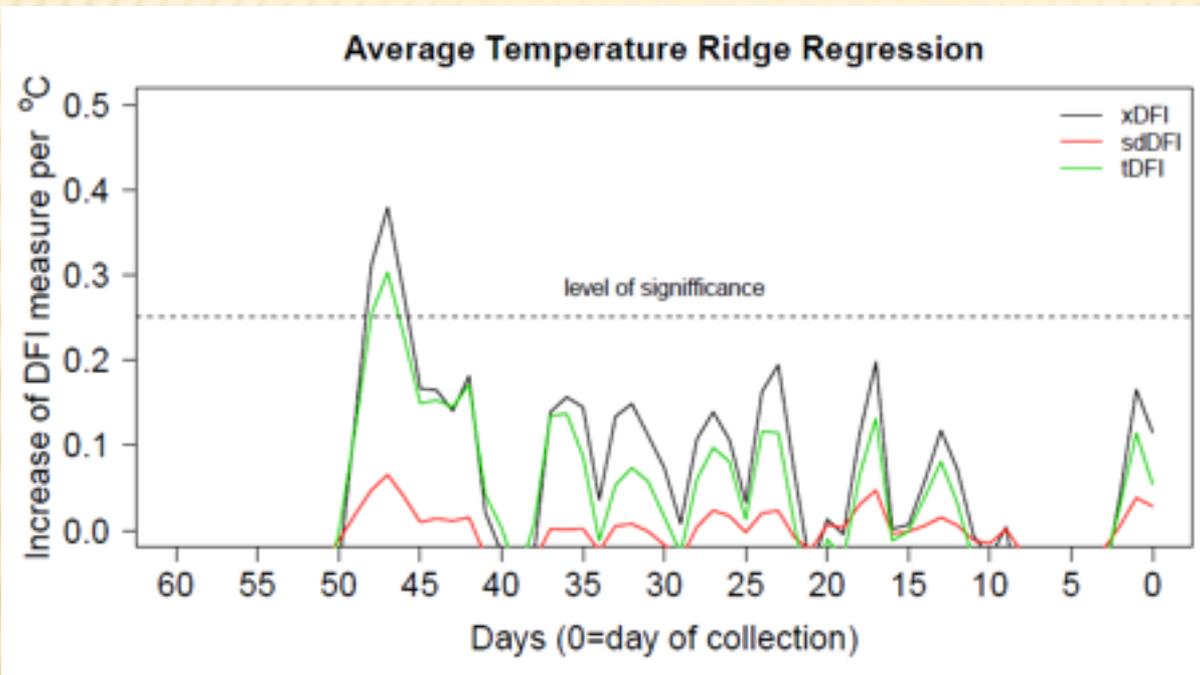
RTA2009-00098-00-00

× Métodos/Técnicas empleadas

- + Análisis de componentes principales, distancias genéticas y asociación de variables climáticas con las frecuencias genotípicas de los SNPs del promotor de la *HSP90AA1* en las distintas razas estudiadas.
- + Técnicas de q-PCR para determinar la tasa de expresión génica. Modelos mixtos para determinar la asociación de los distintos genotipos de los SNPs del promotor de la HSP90AA1 con las medidas de expresión del gen.
- + Medida de fragmentación del ADN espermático mediante Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA) con citometría de flujo. Modelos mixtos y “Ridge regression” para determinar el momento del tiempo y variables térmicas que más inciden sobre la fragmentación del ADN espermático y la asociación del genotipo del SNP G/C₋₆₆₀ con dicha medida de fragmentación.

RTA2009-00098-00-00

✘ Resultados: Fragmentación ADN espermático



LA TEMPERATURA DE LOS DÍAS 46 A 48 PREVIOS A LA RECOGIDA DEL SEMEN (MOMENTO QUE COINCIDE CON LA ESPERMATOGÉNESIS) ES LA QUE PRESENTA UN EFECTO MÁS SIGNIFICATIVO SOBRE LOS NIVELES DE FRAGMENTACIÓN (DFI)

RTA2009-00098-00-00

✘ Resultados: Fragmentación ADN espermático

- un incremento de un 1°C supondría un aumento del 0.27% del DFI
- un aumento de 15°C (aumento que puede observarse de la primavera a la estación calurosa) supondría, para el genotipo GG, un aumento de 0.75 puntos en el DFI (aproximadamente un 4,42 % del valor medio del DFI)
- un aumento de 25°C (aumento que puede observarse de la primavera a pleno verano en JCCM) supondría, para el genotipo GG, un aumento de 1.25 puntos en el DFI (aproximadamente un 7.35 % del valor medio del DFI)

RTA2009-00098-00-00

- ✘ **Resultados:** Diferencias de expresión del gen HSP90AA1 según genotipos y condiciones ambientales

RTA2009-00098-00-00

G/C₋₆₆₀-A/C₋₆₀₁-A/G₋₅₂₂-A/G₋₄₄₄

RTA2009-00098-00-00

- ✘ Resultados: Diferencias de expresión del gen HSP90AA1 según genotipos y condiciones ambientales
- ✘ El genotipo **CC**₋₆₆₀-**AG**₋₄₄₄ estaría ligado a una sobre expresión del gen HSP90AA1 bajo condiciones de heat stress
- ✘ El genotipo **CG**₋₆₆₀-**AG**₋₅₂₂ estaría ligado a una mayor expresión basal del gen HSP90AA1 (condiciones control)

- ✦ **Título: Tolerancia al estrés térmico, modelos de normas de reacción, estudios de asociación con genoma completo en rumiantes de aptitud lechera**

Raza ovina Manchega



Razas caprina Florida y Malagueña

Raza bovina Frisona



✘ Objetivos del proyecto

- + Obtener medidas del componente genético del grado de respuesta individual al estrés por calor (EC) en caracteres de interés económico ligados a la producción lechera y a la reproducción.
- + Determinar regiones genómicas asociadas a la susceptibilidad o tolerancia al EC e identificar genes candidatos posicionales y funcionales mediante el uso de estudios de asociación de

RTA2011-00108

- ✘ Datos- Estudios genética cuantitativa
 - + Manchega: 1.503.329 controles lecheros tomados en un total de 138.890 ovejas pertenecientes a 162 rebaños
 - + Florida: 219.336 controles lecheros tomados en 20 rebaños
 - + Malagueña: 310.488 controles lecheros tomados en 17 rebaños
 - + Frisón: 4.113.738 controles lecheros tomados en un total de 180.987 vacas de 531 rebaños de Castilla

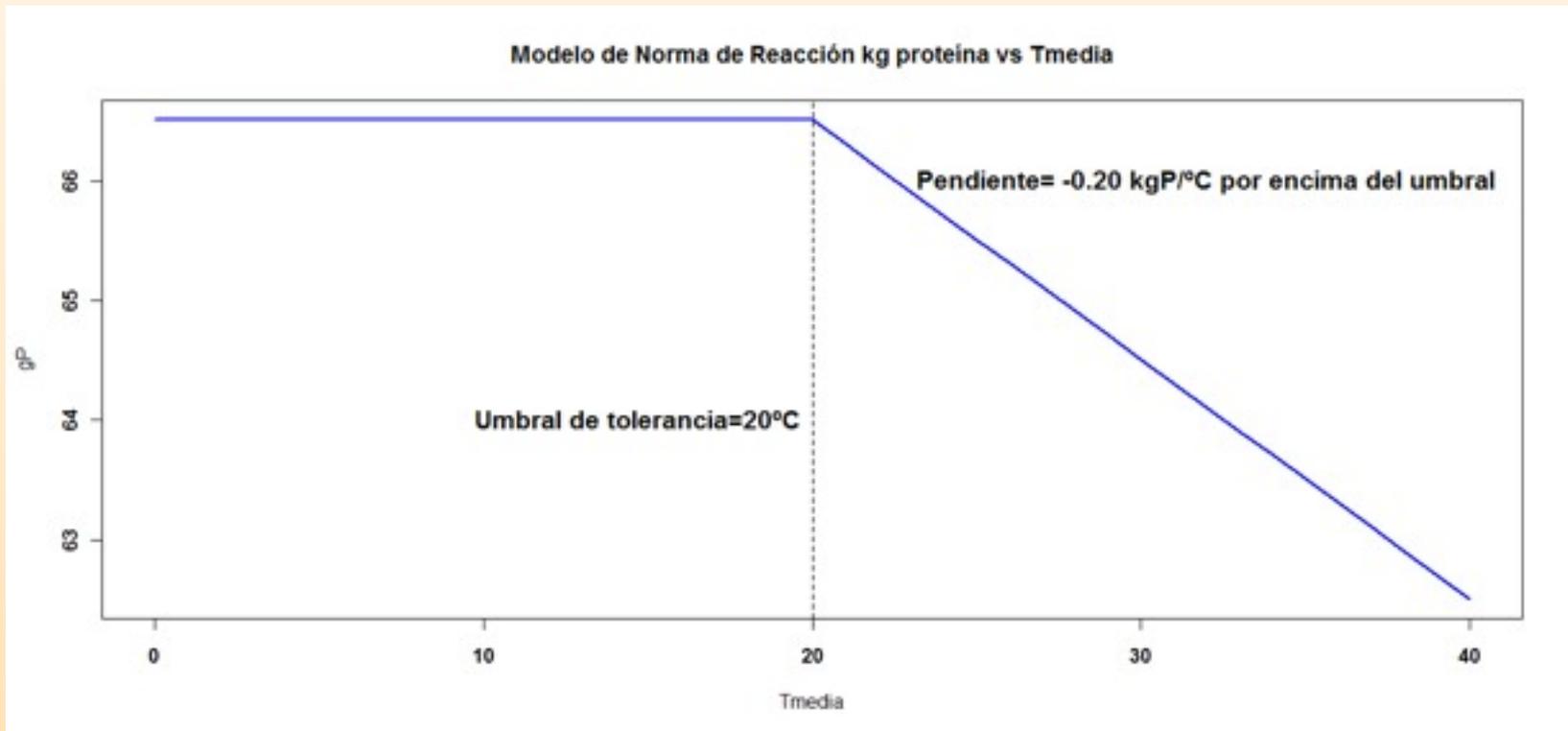
RTA2011-00108

✘ Datos- Meteorología

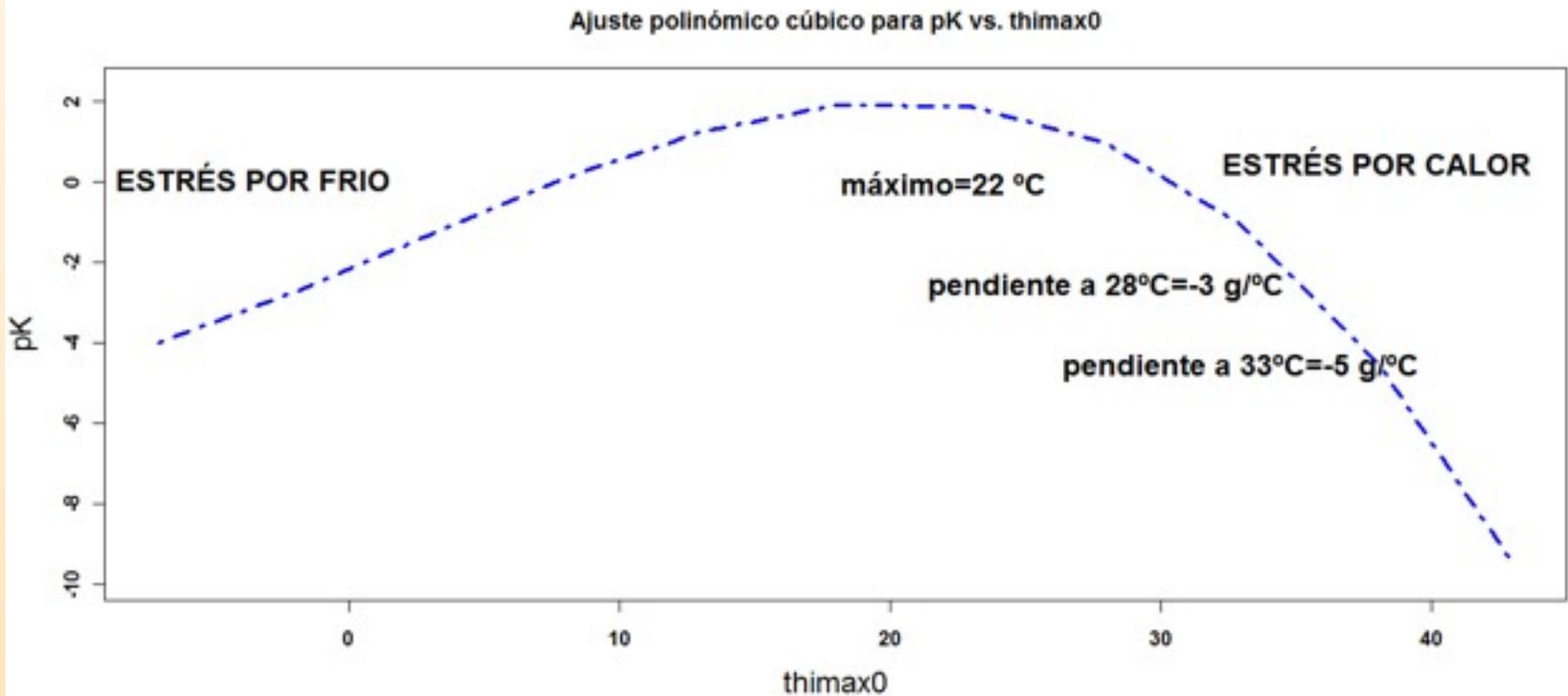
- + Series históricas de datos de temperatura y humedad relativa recogidos en las estaciones meteorológicas de CLM y AND. Cedidos por la AEMET.
- + Se están usando:
 - ✘ Tmedia diaria, Tmáxima diaria e índices de Temperatura-humedad (THI)

- ✘ Datos – Estudios asociación en genoma completo (GWAS)
 - + Genotipos de marcadores SNP en las plataformas de 50k de Illumina
 - ✘ Ovino y caprino: 400 animales en cada especie
 - ✘ Bovino: 1500 animales

✘ Modelos – NORMA DE REACCIÓN



✘ Modelos – POLINOMIOS – DATOS OVINO



✘ RESULTADOS

- + Pocas diferencias (DIC) entre modelos que ajustan distintas variables de temperatura y THI
- + Umbrales de tolerancia

| Variable clima | Umbral tolerancia | Maximo |
|----------------|-------------------|----------|
| Tmedia | 28-29 °C | 18-22 °C |
| Tmax | 30 °C | 25-27 °C |
| THImedio | No estimable | 16-18 |
| THImax | 28-29 | 20-22 |

- + El modelo umbral/pendiente estima menos caída en producción para la temperatura del umbral que los polinomios a la misma temperatura
- + Los polinomios cúbicos dan más caída que los cuadráticos para la misma temperatura
- + Para la misma temperatura, la grasa cae más que la proteína (menos para THlave)

✦ SIGUIENTES PASOS:

- + Ajuste polinómico de curvas para cada individuo con componente genético y ambiental → Criterios de selección para resistencia al calor
- + Estudios GWAS
 - ✦ → ¿Selección genómica?
 - ✦ Genes candidatos para control de estrés por calor

GRACIAS POR SU ATENCIÓN

