

¿QUE TANTO SE PARECEN LOS ANIMALES CLONADOS?: VARIABILIDAD MITOCONDRIAL EN CABALLOS DE POLO PRODUCIDOS POR TÉCNICAS DE TRANSFERENCIA NUCLEAR?

Aranda¹, L.F., Arjona¹, M.Y., Labanca¹, M., Trigo³, P., Sánchez^{1,2}, J.P., Molina¹, A. y Demyda-Peyrás^{1*}, S.

¹Facultad de Ciencias, Universidad de Córdoba, Edif. C Campus de Rabanales, 14001 Córdoba.

²IRTA, Torre Marimon, 08140 Caldes de Montbui, Barcelona. ³Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. CCT CONICET La Plata. Calle 118 s/n La Plata 1900 Argentina;

*sebass@uco.es

INTRODUCCIÓN

En la Argentina existe una industria centrada en la producción de caballos de polo clonados mediante el uso de técnicas de transferencia nuclear de células somáticas. Datos no oficiales, estiman ya la existencia de más de mil caballos clonados, con una tendencia al aumento de manera exponencial. Si bien la mayoría de los criadores cree que los animales producidos por estas técnicas son idénticos al animal fundador desde el punto de vista genético, esto en la práctica no es así. Durante el proceso de producción de los animales, el ADN nuclear del animal fundador es introducido por técnicas de micromanipulación dentro de ovocitos enucleados, que aportan su maquinaria metabólica para el desarrollo del embrión, incluidas sus propias mitocondrias. El resultado de este proceso es que todos los animales clonados utilizando esta técnica poseen un ADN mitocondrial diferente al del animal fundador. El objetivo de este estudio es caracterizar los perfiles genómicos del ADN mitocondrial de caballos de polo argentino producidos por transferencia nuclear, como un primer paso para determinar el posible efecto fenotípico de esta situación genética.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de pelo de 67 animales de polo argentino, incluyendo 8 animales fundadores y 59 animales clonados. De dichas muestras se realizó una extracción de ADN utilizando un kit comercial (Tiaris Biociencias, Spain). La integridad del ADN fue luego evaluada mediante espectrofotometría (Nanodrop™) y gel de agarosa al 1%. Aquellas muestras con calidad suficiente fueron secuenciadas utilizando la tecnología de "short reads" de Illumina™ en las instalaciones de Neogen (Ayr, Escocia). Los resultados fueron procesados utilizando una pipeline bioinformática desarrollada por nuestro grupo de trabajo en la plataforma R, que incluyó el uso de diversos programas, incluyendo BWA (alineación), SAMTOOLS y BCFTOOLS (data handling) y PICARD (data cleaning). Las secuencias fueron finalmente alineadas a la versión EQU CAB3.0 del genoma del caballo obteniéndose la secuencia mitocondrial completa de todos los animales. Finalmente, estudios filogenéticos y de divergencia fueron realizados en la plataforma R utilizando los paquetes APE, PHANGORN y BIOSTRINGS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados demuestran un amplio grado de divergencia entre el perfil mitocondrial de los animales fundadores y el obtenido de sus clones. Si bien la variabilidad existente en el perfil genético mitocondrial de los animales de Polo Argentino es grande, lo cual se explica por su origen abierto, solo el 12% de los animales clonados mostraron un perfil genético similar al de sus fundadores. En el mismo sentido, la variabilidad mitocondrial observada entre animales originados en un mismo fundador fue también alta. Los principales perfiles genéticos observados en el análisis filogenético fueron compatibles con caballos criollos argentinos, caballos cuarto de milla, caballos puros de carrera (TB) y caballos sin raza asignada. De la misma manera, se observó una alta variabilidad en variantes genéticas asociadas a diversos genes presentes en el genoma mitocondrial entre los individuos y sus fundadores.

CONCLUSIÓN

Este es el primer trabajo que aborda la variabilidad mitocondrial existente en caballos clonados. Nuestros resultados revelan una amplia variabilidad en los perfiles genéticos mitocondriales entre los animales, que podrían verse asociados a diferencias en el fenotipo de los animales. Si bien los caballos de polo clonados tienen una baja tasa de éxito deportivo, son necesarios estudios adicionales para determinar cuál es el verdadero efecto fenotípico de este tipo de animales producidos por técnicas de ART's.

Agradecimientos: El grupo de trabajo agradece a todos los criadores que han provisto voluntariamente de muestras de animales para su análisis.