

Necesidad de la Genómica en el Mejoramiento de Camélidos en el Perú (un ensayo)

Ricardo Fujita, Ph.D.(*)

Los camélidos en la economía

Los camélidos sudamericanos han tenido importancia económica desde tiempos pre-hispánicos como lo indican los restos encontrados en culturas costeñas y andinas. Igualmente los cronistas de la conquista registraron costumbres como el chaku de vicuñas que perduran hasta nuestros días. Los camélidos tienen una fibra fina, muy apreciada por la industria textil, siendo la de vicuña la fibra animal más fina, cara y apreciada que existe. Desgraciadamente las vicuñas son animales silvestres, hasta hace poco en peligro de extinción y su número es todavía insuficiente como para tener gran impacto en la industria textil o en beneficio de la población general. Los guanacos son igualmente silvestres y su status poblacional en Perú es más precario que el de las vicuñas, y su aporte a las actividades económicas es prácticamente nulo. Entre las especies de camélidos domesticadas, alpaca y la llama tienen el mayor impacto en la economía andina y son usados por su fibra, cueros, carne y en el caso de la llama, como animal de carga.



Camélidos sudamericanos representativos del Perú.

La alpaca es la más utilizada en Perú con cerca de 4 millones de cabezas que representan el 90-95% del pool genético mundial. La industria textil internacional percibe la fibra de alpaca como una de las más finas del mundo y ello es cierto cuando es de buena calidad. Lo que muchos no sabemos es que la mayoría de animales

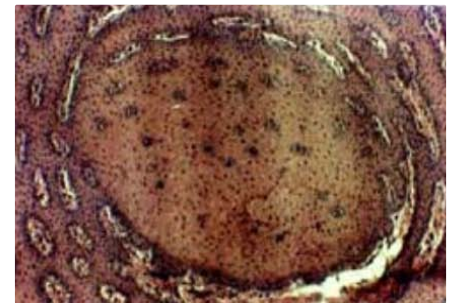
(hasta 80%) no tienen buena calidad para la industria textil, por lo que hay una necesidad dramática de mejoramiento genético en esta especie. Esto se debería a la arraigada costumbre de vender la lana en peso en vez de seleccionar calidad, induciendo a algunos ganaderos a cruzar alpacas con llamas para obtener híbridos (huarizos y mistis) más grandes y voluminosos. Además la cantidad de especímenes de color han disminuido considerablemente por la preferencia de fibra blanca para facilitar el teñido; irónicamente ahora el mercado internacional tiene renovado interés por la fibra de color natural. Se han registrado al menos 17 colores diferentes de lana de alpaca. A pesar del aparente deterioro de la especie, el poseer al menos el 90% del pool genético mundial en nuestro acervo poblacional alpaquero, debe hacernos razonar que todavía debemos tener los mejores genes de la especie y es necesario identificarlos para usarlos como parámetros racionales de mejoramiento.

Actualmente la ganadería de camélidos (llama y alpaca) está restringida a la zona altoandina (3800-5000 m.s.n.m) de 14 departamentos y dependen de ella más de 200 000 familias con cerca de 1'500 000 personas, consideradas entre las más pobres del Perú. Sin embargo su ganadería tiene un enorme potencial como lo prueba el interés que despiertan en otras latitudes. Una excelente revisión sumariada del potencial de la ganadería alpaquera se encuentra en:

http://www.peruecologico.com.pe/fau_alpaca_1.htm del Dr. Antonio Brack Egg.

Un problema importante en la ganadería de camélidos lo constituyen las enfermedades infecciosas. Por ejemplo la enterotoxemia neonatal diezma a los recién nacidos, mientras que la sarna que malogra la piel,

fibra, etc de los animales mayores. La carne de alpaca es apreciada por tener poca grasa (la de más bajo colesterol), es muy sabrosa y tierna, con un gran potencial para su comercialización. Además es un recurso extra para el ganadero cuando por diversas razones es rentable sacrificar animales. Una enfermedad parasitaria de músculo, la sarcocistiosis, deteriora la carne e impide la comercialización de su carcasa, deploradamente el parásito es muy común en las zonas altoandinas.



Microquistes de *Sarcocystis* en carne de alpaca

Los genes determinan el fenotipo

Como toda característica física y fisiológica en los organismos, la calidad de fibra y la propensión a infecciones tienen un componente genético y por esa razón tienen gran potencial de mejoramiento.

Las características como la calidad y color de fibra, la propensión a infecciones, la cantidad y calidad de carne entre otros, son de naturaleza multifactorial, que son determinados por el ambiente así como por elementos biológicos, incluyendo los genes. Estas características genéticas son aditivas y son conocidas como QTL's (quantitative trait loci). El fenotipo de los animales está determinado por los genes que tiene, por ejemplo la fibra está formada por proteínas llamadas queratinas y otras proteínas asociadas, además hay muchas otras proteínas involucradas en los folículos

pilosos donde se forman las raíces de los pelos (factores de crecimiento, receptores, hormonas, etc.). Las diferentes variantes (mutaciones) de los genes que expresan estas proteínas determinarán el largo y ancho de la fibra, su consistencia, calidad, color, etc. Otras proteínas sirven para la defensa del cuerpo contra las infecciones y las variantes de éstas determinarán que el individuo sea más resistente o susceptible a ciertos tipos de infecciones. Hay muchas proteínas involucradas en la inmunidad innata y adquirida que conforman un complejo sistema que incluye el MHC, anticuerpos, citoquinas, complemento, etc. Igualmente se están descubriendo genes que mejoran la cantidad, calidad, textura y sabor de la carne.

El genoma es inmenso, heterogéneo y expresado en menos del 1,5%

El genoma es el conjunto de la información genética de un organismo, y en los mamíferos es muy grande, con un promedio de 3 000 millones de bases, con alrededor de 25 000 genes repartidos en los cromosomas (37 pares en camélidos). En mamíferos el genoma de una especie es casi igual entre todos los individuos (99% o más); pero no hay 2 individuos idénticos. Esta diferencia se da por cambios (mutaciones) en algunos individuos y a veces se fijan en la descendencia. Por otro lado hay que tener en cuenta que la mayor parte de las secuencias del genoma no codifican para proteínas y menos de 1,5% del genoma de mamíferos es traducido. La mayor parte de las mutaciones caen en regiones sin aparente importancia biológica que es el 98,5% de secuencia genómica de los intrones o regiones intergénicas. Sin embargo tienen mucha utilidad en estudios de mejoramiento porque constituyen la inmensa mayoría de marcadores genéticos y muchas de esas mutaciones tienen un rol en la producción o regulación de la expresión de los genes.

En camélidos hay déficit de marcadores genéticos

Para descubrir un gen o la región que la contiene (locus), asociados a un carácter, se necesitan alrededor de 1000 marcadores bien distribuidos en todas las regiones cromosómicas. Desgraciadamente en

camélidos hay registrados menos de 100 marcadores. Los marcadores de DNA son variantes (o mutaciones) que se encuentran en los cromosomas de sólo algunos individuos de la población (cada versión es un alelo). De tal manera que sirven como post-its moleculares que permiten seguir una región cromosómica (genotipo) a través de diferentes generaciones y para buscar asociación por cosegregación con caracteres en estudio (fenotipo). Este marcador específico señalará indirectamente la localización (mapeo genético) del gen, o región cromosómica (locus, pl. loci) si el gen es aún desconocido.

Se calcula que existen al menos 1 millón de marcadores genéticos potenciales, repartidos en todas las regiones del genoma de mamíferos. Los genes y marcadores tienen la misma posición en los cromosomas de todos los individuos de la especie, de tal manera que se puede construir un mapa con la localización de genes y marcadores asociados físicamente. Así, la presencia de un alelo en un marcador implica la presencia de un alelo de un gen vecino. El estudio con marcadores reduce la búsqueda del gen a una porción muy pequeña del genoma (0,5% o menos), facilitando su identificación.

Una vez conocido el gen o locus de un carácter es posible comparar los alelos (genotipos) en individuos con diferentes caracteres (fenotipos). Por ejemplo se puede analizar las diferentes variantes de genes de queratinas en camélidos de fibra fina vs fibra gruesa; o correlacionar las alelos de genes de defensa en animales propensos a infecciones vs. resistentes. Con ello se podrá diseñar estrategias de mejora genética con cruces de acuerdo al carácter buscado y de la composición genética de los padres potenciales.

El mejoramiento tradicional basado en la segregación de características deseadas puede durar varias generaciones y décadas, mientras que usando genes y marcadores el mejoramiento se reduciría a una fracción de ese tiempo. Ello se debe a que se trabaja racionalmente con la información genética y por lo tanto podemos diagnosticar, pronosticar y diseñar cruces con criterio

informado. El ganadero sabría que animal tiene la mejor combinación de genes (o marcadores) deseados a pasar a las otras generaciones y que animales tendrán la mejor característica desde que nacen, meses, aún años antes de expresarlas. Además las variantes de genes o marcadores asociados con productividad pueden ser usados como sello de calidad en el animal en sí y en su descendencia. En sentido contrario, con estas variantes se puede deducir si un animal descende de progenitores calificados.

Estudios genómicos en especies ganaderas: paradigma para camélidos.

La tecnología usada en el genoma humano ha sido transferida exitosamente a diversas especies ganaderas. Los avances de la genética molecular y biotecnología han generado nuevos parámetros racionales (genes, marcadores y mapas genéticos) que están obteniendo logros impresionantes en el mejoramiento genético.



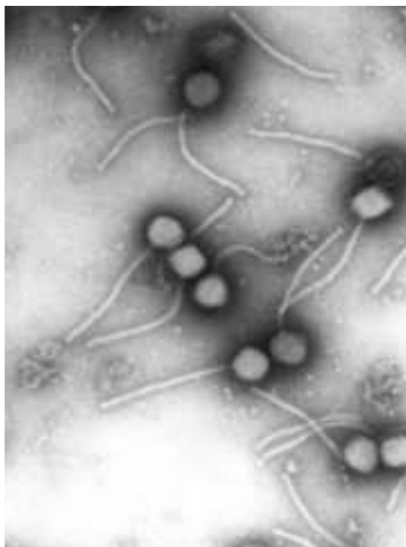
Estudios genómicos en camélidos enrumbaría a un gran avance en la ganadería nacional

Sorpresivamente, casi nada se ha hecho en la genética molecular ni en alpacas ni en otros camélidos (llamas, vicuñas, guanacos, camellos y dromedarios). Hay proyectos millonarios en marcha para estudiar el genoma de animales ganaderos como bovinos, ovinos, caprinos, equinos, porcinos, etc. A pesar de su creciente uso en la industria lanar y uso ornamental en otros países sorprende que la alpaca y los camélidos en general tengan escasos estudios a nivel molecular, por ello es necesario incrementar el número de investigaciones en este tema. Por ello, una ventaja tecnológica de trabajar en camélidos es que ya se ha trabajado mucho en la genética de otros artiodáctilos de

importancia ganadera y se conocen muchos genes y marcadores asociados a productividad.

Un banco genómico como plataforma tecnológica para la identificación de genes y generar marcadores

La forma de identificar genes y generar marcadores es construyendo un banco genómico, una colección de segmentos clonados en bacterias que juntos representan todo el genoma; como la información de una computadora copiada en miles de CD's. Ello se hace gracias a vectores bacterianos que permiten insertar segmentos genómicos para su reproducción por miles de millones de veces dentro de bacterias. Entre los vectores más usados ahora están los BACs (Bacterial Artificial Chromosomes, inserto genómico entre 100 000 a 300 000 pares de bases-bp.), fósmidos (50 000 bp) o bacteriófagos (20 000 bp).



Bacteriófagos

Esto permite el estudio más detallado de la región donde haya genes y marcadores de interés. Cada cromosoma tiene en promedio 100 millones de bases equivale a 30 libros grandes de mil páginas cada uno (3000 letras/página), donde hay unos 800 genes; buscar un gen aún desconocido es como buscar la aguja en decenas de pajares diferentes (los cromosomas). Un banco genómico nos permite tener todas las secuencias del genoma en segmentos de DNA manejables en laboratorio. En vez de tener la información del genoma en 37

libros de 30 000 páginas (cromosomas), vamos a tener la misma información en miles de separatas de 30 a 100 páginas que permite una búsqueda mas detallada para el gen por conocer. O sea cada pajar ha sido reducido a 1000 montoncitos para facilitar la búsqueda de la aguja.

Es igualmente importante localizar los genes y marcadores en sus respectivas regiones cromosómicas conforme se van descubriendo para tener un mapa que facilite y guíe sistemáticamente futuros estudios de mejoramiento. El banco y el mapa del genoma de camélidos será una plataforma tecnológica que permitirá identificar genes y marcadores de interés productivo como fibra, inmunidad, carne, fertilidad, etc. Por ejemplo se puede aprovechar las secuencias de genes en razas de ganado lanar bien estudiados como la oveja Merino o la cabra Cashmere para identificar sus genes homólogos en alpaca, llama y vicuña. Por otro lado se puede identificar genes de inmunidad en camélidos usando secuencias de genes del sistema MHC que detectan cuerpos extraños y autoinmunidad, anticuerpos, interferón, citoquinas, etc., provenientes de ovinos, caprinos, equinos, bovinos y humanos. Una acotación pertinente es que uno de los pocos genes identificados en camélidos es el de un tipo de anticuerpo existente únicamente en ellos y que está constituido sólo de la cadena pesada. Éste es espacialmente más pequeño que los anticuerpos clásicos que tienen cadena pesada y cadena ligera, y es la base de la construcción de ingeniería genética llamada el "nanobody". Ésta es una molécula muy pequeña que tiene actividad de reconocimiento a antígenos y por su tamaño puede acceder a sitios que no llegan los anticuerpos clásicos, por lo que tienen un gran potencial en terapéutica.

Estudios de genética molecular en alpacas

El interés por las alpacas y llamas se está expandiendo progresivamente a Norteamérica, Europa, Asia y Oceanía y se está sacando del país animales finos, mayormente por contrabando. Con la capacidad tecnológica de esos países desarrolladas, no sorprendería que en pocas décadas nos lleven la delantera en

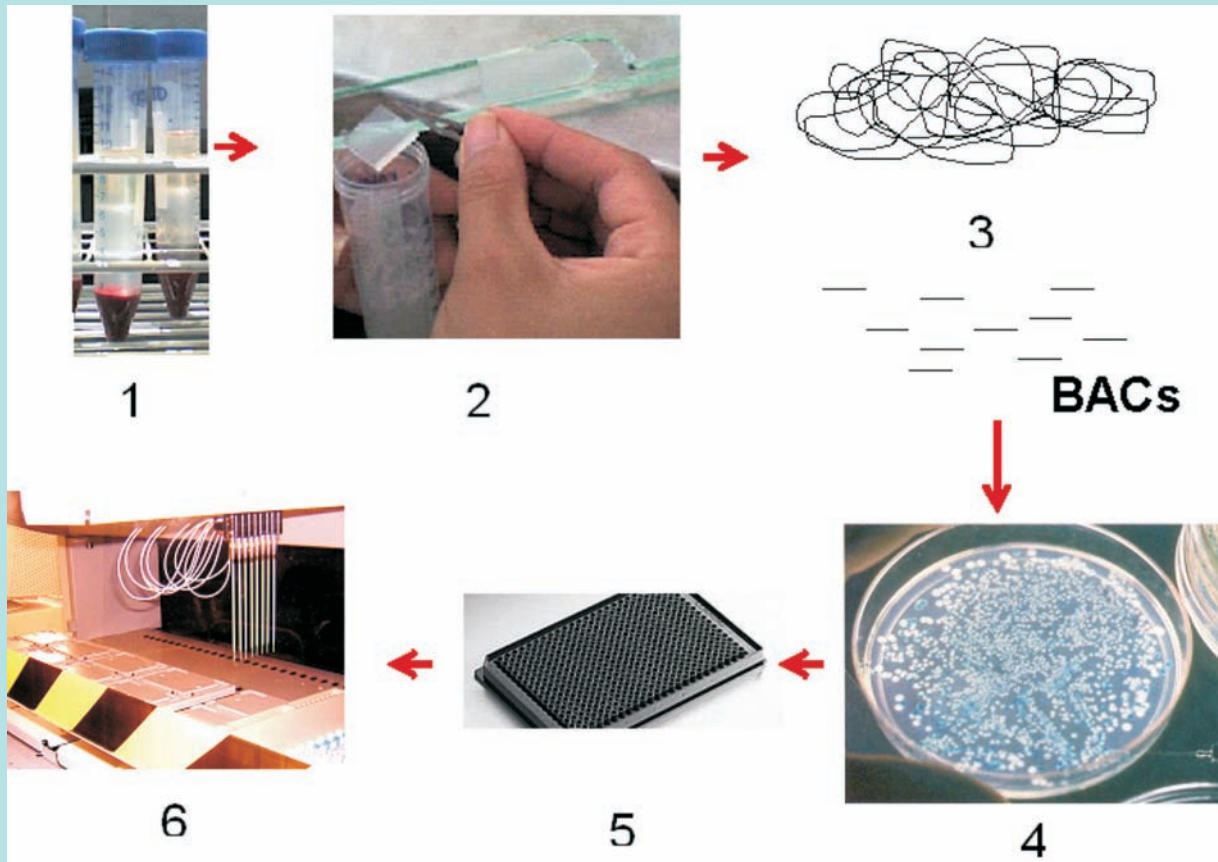
estos menesteres, quedando nosotros como espectadores aún cuando tenemos el mayor pool genético del mundo en alpacas y vicuñas. Los peruanos debemos realizar mas estudios de genética y genómica en camélidos sudamericanos antes que se agrande la brecha tecnológica y económica con otros países. No repitamos pues los ejemplos del yacón, maca, uña de gato y el propio "nanobody", que teniendo todos origen peruanos, las especies o sus productos están siendo patentados en otros países.

Algunos grupos de investigación peruanos están viendo, enhorabuena, con interés la genética molecular de los camélidos sudamericanos en busca de nuevos genes y marcadores. Éstos grupos incluyen laboratorios de las universidades de San Marcos, Cayetano Heredia y el Instituto Peruano de Energía Nuclear que están proponiendo la generación de marcadores a partir de bancos de cDNAs que representan a secuencias expresadas (1,5% del genoma).

La Universidad de San Martín de Porres está liderando una iniciativa para construir un banco genómico en clones BACs y tener una plataforma completa del 100% del genoma de alpaca, con el apoyo del Proyecto INCAGRO (Innovación y Competitividad para el Agro Peruano, Ministerio de Agricultura). El banco genómico (el primero del mundo en camélidos) está siendo preparado en parte en el CGBM-USMP y parte en Genoscope (Centro del Genoma de Francia). A la fecha (diciembre 2007) ya se han generado 110 000 clones BACs cubriendo entre 4 a 5 veces el genoma y el 2008 se piensa completar una cobertura de 10-11 veces el genoma. Esta redundancia es necesaria para obtener la mayor parte del genoma clonada en BACs. Este banco servirá para buscar genes homólogos de alpaca a partir de secuencias de ovinos, caprinos y bovinos que serán obtenidos del Banco de Genes y Genomas del Animal Sciences Dpt. de la Texas A&M University. Esta estrategia permitirá identificar los genes y generar marcadores relevantes para la caracterización y mejoramiento genética de la alpaca y los otros camélidos.

(*)Centro de Genética y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de San Martín de Porres, La Molina, Lima.

Construcción del primer banco genómico de alpaca en BACs (el primero de camélidos en el mundo)



1. Purificación de células nucleadas (glóbulos blancos) de sangre de alpaca, USMP.
2. Preservación de células intactas en gelatina agarosa (USMP)
3. Verificación de integridad del DNA cromosómico (cientos de millones de bases), USMP, Genoscope.
4. Corte de DNA en segmentos de 100-300 mil bases e introducidas en bacterias (segmentos clonados), más fáciles de analizar con las técnicas actuales (USMP, Genoscope).
5. Microarreglo para ordenar, sistematizar y facilitar la automatización y el análisis de grupos de 384 clones (Genoscope)
6. Proceso de automatización y replicado (copiado) por robots de cientos de microarreglos constituyendo la colección del banco (Genoscope). Listo para ser utilizado en USMP con insumos de la Texas A&M para identificar genes, marcadores de fibra e inmunidad y usar clones para mapa cromosómico.