

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN E INNOVACION AGROPECUARIA 2020-2024

1. INFORMACION GENERAL

- 1.1. **Título del Proyecto:** Investigación-Innovación estudios genómicos de los recursos zoogenéticos y su interacción con efectos bióticos y abióticos
- 1.2. **Responsable del Proyecto:** Axel Villalobos Cortés (<http://orcid.org/0000-0003-4223-0560>)
villalobos.axel@gmail.com
- 1.3. **Programa:** Programa De Investigación - Innovación En Recursos Genéticos y Biodiversidad
- 1.4. **Sub-Programa:** Investigación - Innovación para la valoración y conservación del recurso genético
- 1.5. **Línea de investigación:** aplicación de la biotecnología, nanotecnología y agroecología para mejorar el desempeño de los sistemas de producción; prospección del recurso genético animal vegetal y biodiversidad asociada de interés en los sistemas productivos.
- 1.6. **Ámbito Agroecológico:** zona 1, 2 y 4
- 1.7. **Tipo de Investigación:** Básica y aplicada
- 1.8. **Duración:** 4 años
- 1.9. **Sede:** Centro de Investigación Agropecuaria Recursos Genéticos
- 1.10. **Equipo Ejecutor:** Rita González Herrera, Hilda Castillo Mayorga, Esteban Arosemena, Ginnette Rodríguez, Selma Franco, Domingo Sánchez.

2 ANTECEDENTES:

Los recursos zoogenéticos son animales que se utilizan o pueden utilizarse, para la producción de alimentos y en la agricultura, y las poblaciones dentro de estas especies, lo mismo que su material genético conservado. Los recursos zoogenéticos son una parte importante y estratégica del patrimonio de un país. Estos recursos son la materia prima de los mejoradores y constituyen uno de los insumos más importantes de los agricultores (FAO, 2009). La conservación y uso sustentable de los recursos zoogenéticos como medio de mantener la diversidad biológica ha sido en los últimos años en un tema relevante (Hodges, 2002), ya que estos recursos revisten intereses económicos, científicos, históricos y culturales, tanto hoy como en el futuro. Las razas locales de animales domésticos están siendo desaprovechadas, y los últimos informes indican que 30% de las razas del mundo están en peligro de extinción (FAO, 1996). La pérdida de variabilidad de estos recursos representa una fuerte disminución de la diversidad total del planeta, ya que por largos periodos de selección natural y evolución se ha conformado un conglomerado de genes con características tan valiosas como la adaptación a condiciones adversas, incluyendo enfermedades, sequía y una adaptación al consumo de pastos de mala calidad. Todo esto proporciona una inestimable fuente de alimentación rica en proteínas. La ciencia de la genómica y la biotecnología son herramientas de identificación de genes asociados a la conservación y uso de distintas razas que redundarán en más información para la producción animal, así como la identificación de genes que le permitan adaptarse a los cambios ambientales y dentro de este aspecto, cómo los animales interactúan con las enfermedades y su capacidad de enfrentarlas. Diversidad de técnicas como PCR punto final y tiempo real, la secuenciación Sanger, secuenciación de siguiente generación (NGS) y la metagenómica, son imprescindibles, para identificar toda esa biodiversidad de genes de interés en la alimentación y la agricultura.

3 JUSTIFICACIÓN:

La identificación de poblaciones localmente adaptadas, conviene que sean caracterizadas y utilizadas como fuente disponible de biodiversidad para enfrentar el efecto de las variaciones del clima, enfermedades emergentes o demandas de mercado y tendencias de la sociedad, ya sean como genotipos puros o dentro de diseños de sistemas de cruzamiento donde se requiera el aporte de genes de rusticidad y adaptación, además de los aspectos de calidad en la producción de leche y carne. Se han desarrollado nuevos equipos y tecnología que permite a nivel de genoma, la identificación de genotipos de interés mediante marcadores que pueden ser correlacionados a una

diversidad de fenotipos de interés para los mercados y que facilite a los agricultores, producir dentro de sistemas resilientes a factores bióticos y abióticos. El incremento de la temperatura media ha alcanzado a niveles alarmantes (entre 0.8 y 1.2°C) por encima de los niveles preindustriales y 0.1 y 0.8 por década, con la consecuencia que cada año tendremos un clima cada vez más hostil para la agricultura. Debido a la importancia económica del ganado, es necesario realizar estudios que nos den una mejor comprensión de la fisiología bovina; y como las comunidades microbianas repercuten en la salud del animal. Desde el desarrollo de las técnicas de secuenciación de próxima generación, los estudios en metagenómica nos brindan una oportunidad para explorar la flora microbiana y sus posibles asociaciones a enfermedades

4 FINALIDAD:

Contribuir al fortalecimiento de la base agro tecnológica nacional, a la sostenibilidad de los sistemas de producción ganaderos con innovaciones agro tecnológicas que permitan la identificación en el genoma del bovino diversos genes de adaptación a estrés calórico, resistencia a enfermedades y otros genes de interés a base de la generación de un producto pretecnológico de micro arreglos de SNP´s combinado con oligonucleótidos específicos donde se identifiquen animales de valor genético tanto para la producción cárnica y lechera, además de contribuir a la recuperación de la biodiversidad de razas localmente adaptadas y mantener una reserva de germoplasma que permita ser resilientes al cambio climático, tolerancia a enfermedades y responder a futuras demandas del mercado.

5 PROPÓSITO:

Adaptar y validar un panel combinado de identificación de genes de utilidad para sistemas de carne y leche mediante el estudio del genoma de las razas Guaymí y Guabalá como fuente de variabilidad genética ubicadas en los centros de conservación *in situ*, *ex situ*, *in vivo* e *in vitro* del IDIAP y fincas privadas, además de otras razas y especies localmente adaptadas que puedan ser de interés en la conservación de la biodiversidad y la producción animal en sistemas ganaderos de pequeños y medianos productores.

6 IDENTIFICACIÓN DE BENEFICIARIOS DEL PROYECTO:

Cerca de 43 productores ganaderos en áreas de la comarca Gnabe-Bugle, además de un aproximado de 200 pequeños productores de sistemas de doble propósito de diversas regiones. Igualmente, cerca de 100 técnicos relacionados a extensión agropecuaria, trazabilidad bovina, hurto pecuario. Indirectamente más de 1500 productores con acceso a información de catálogo digital sobre sementales y marcadores genéticos relacionados a la calidad de carne, leche, fertilidad, resistencia a enfermedades, adaptación a estrés calórico y posibles desordenes genéticos. Se beneficiarán profesionales y estudiantes de medicina veterinaria, biotecnología, biología e ingeniería en producción animal, ingeniería agronómica, un aproximado de 500 estudiantes.

7 PRODUCTOS PROGRAMADOS:

7.1: Contar con un perfil genético de razas/genotipos en Panamá y una herramienta que permita identificar razas y genotipos dentro de un grupo de poblaciones y su proporción de mezcla.

7.2: Contar con una herramienta alterna que permita apoyar en los casos de cuarterismo o control de filiación.

7.3: Contar con un protocolo que permita generar un perfil molecular de genotipos lecheros para incluirlos en programas de selección y cruzamiento de pequeños productores

7.4: Disponer de una base de datos de enfermedades genéticas presentes en razas lecheras y de carne que permitan generar una alerta temprana sobre su posible presencia y evitar su uso en sistemas de cruzamiento que incrementen la probabilidad de aparición.

7.5: Contar con la información metagenómica de los principales microorganismos presentes en el tracto reproductivo de bovinos en lecherías de pequeños productores como posible factor de riesgo de la baja fertilidad.

7.6: Contar con un perfil genético y una base de datos de animales de diversas razas con genes favorables al estrés calórico

7.7 Contar con un perfil genético y una base de datos de genotipos con tolerancia a enfermedades particularmente Leucosis Enzoótica Bovina

8 ACTIVIDADES:

En el proyecto se agrupan en cuatro elementos, que comprenden, Identificación de marcadores moleculares en razas localmente adaptadas y en el mejoramiento genético de sistemas de carne y leche, Identificación de marcadores moleculares relacionados a enfermedades genéticas y reproductivas en razas localmente adaptadas y de sistemas producción de carne y leche, Identificación de marcadores moleculares relacionados genotipos con resiliencia a enfermedades y estrés calórico en razas localmente adaptadas y de sistemas de producción de carne y leche y Transferencia y difusión de resultados.

Elemento 1: Identificación de marcadores moleculares en razas criollas y en el mejoramiento genético de sistemas de carne y leche.

- 1.1 Estructura y diversidad genética de razas locales e introducidas mediante secuenciación y marcadores de polimorfismo de nucleótido simple.
- 1.2 Genotipificación de razas bovinas lecheras mediante marcadores *DGAT1*, *CSN1S1*, *CSN1S2*, *LALBA*, *GH1* y *ABCG2*.
- 1.3 Genotipificación de razas bovinas de carne mediante marcadores *MSTN42*, *MSTN80*, *MSTN99* y *TG*.

Elemento 2: Identificación de marcadores moleculares relacionados a enfermedades genéticas y reproductivas en razas criollas y de sistemas producción de carne y leche.

- 2.1 Identificación de marcadores asociados a desórdenes genéticos en razas bovinas localmente adaptadas e introducidas.
- 2.2 Caracterización molecular de comunidades microbianas en el tracto reproductivo de vacas criollas y lecheras en Panamá.

Elemento 3: Identificación de marcadores moleculares relacionados genotipos con resiliencia a enfermedades y estrés calórico en razas criollas y de sistemas de producción de carne y leche.

- 3.1 Identificación del gen mutante slick del receptor de prolactina PRLR en razas Guaymí, Guabalá, Senepol y cruces de carne y leche.
- 3.2 Caracterización molecular del gen HSP70 en razas bovinas criollas y genotipos de carne y leche.
- 3.3 Diversidad genética del gen BoLA-DRB3.2 y polimorfismos asociados con resistencia al virus de leucosis enzoótica bovina.

Elemento 4: Transferencia y difusión de resultados

Este cuarto elemento comprende la transferencia y difusión de resultados obtenidos.

Se proponen dos actividades:

- 4.1 Taller de Difusión de resultados a extensionista y productores
- 4.2 Taller de capacitación para técnicos y biotecnólogos en el análisis de resultados de pruebas moleculares

9 ESTRATEGIA METODOLÓGICA

Se extraerán muestras de ADN de bovinos de diversas razas de interés en la producción de carne y leche mediante un panel de nueva generación, recomendados por la ISAG. Se identificarán alelos asociados a diversos rasgos de interés en biodiversidad, producción animal y desórdenes genéticos, entre otros ya que se encuentran distribuidos en diversos loci del genoma bovino. Se utilizarán 200 marcadores para estudios de biodiversidad, 6 marcadores asociados a calidad de leche, 4 marcadores asociados a calidad de carne y 48 marcadores relacionados a desórdenes genéticos como factor de riesgo en sistemas de cruzamiento donde hay elevación de la endogamia. Con esta estrategia, se creará un perfil enético por animal que facilitará su uso en programas de mejora genética, trazabilidad y hurto pecuario entre otras utilidades.

La metagenómica es el análisis de ADN a partir de una comunidad. En este contexto para estudiarán diversos microorganismos, tanto virus como bacterias que pueden estar interactuando dentro del ambiente prepucial y vaginal de los bovinos y sus posibles implicaciones. El procedimiento consiste en: la selección del nicho ambiental, en este caso el área prepucial en el caso del macho y vaginal en hembra, el aislamiento del material genético, la manipulación del material genético, la creación de una librería de ADN, y el análisis del material genético con la librería creada para el metagenoma, en este caso mediante NGS.

La termorregulación es el proceso mediante el cual las especies mantienen una temperatura corporal relativamente constante. Los animales sufren estrés calórico (HS) una vez que se altera este equilibrio y el índice de temperatura y humedad (ITH) excede el valor de 72. Un HS se considera grave cuando ITH excede el valor de 88. La función de la HSP70 ha sido objeto de estudios e investigación en la protección de la célula contra el HS. La técnica propuesta es la de PCR en tiempo real con análisis de fusión de alta resolución (HRMA) para la identificación del polimorfismo de SNP del gen HSP70 y se incluye el estudio de las mutaciones de alelos del gen de prolactina (PRLR) que causa el pelo *Slick*. Se utilizará la técnica de genotipado KASP. El polimorfismo del gen BoLA-DRB3.2 asociado a la producción láctea, proteína y grasa y con la resistencia/susceptibilidad a enfermedades tales como brucelosis, infestación por garrapatas, hemoparásitos, mastitis y leucosis enzoótica bovina formaría el otro componente de las estrategias para desarrollar resiliencia a los efectos del cambio climático y enfermedades que afectan la economía agropecuaria, en este caso la ganadería. En trabajos previos ya se había adecuado una metodología y protocolo para identificar este gen en razas locales en Panamá con lo cual se puede crear un perfil genético de cada animal y establecer la frecuencia de alelos favorables y desfavorables que permitan obtener un animal resiliente y adaptado a las condiciones agroecológicas del país.

10 ESTRATEGIA DE DIFUSIÓN DE AVANCES Y RESULTADOS DE INVESTIGACIÓN

Para el establecimiento de las estrategias de difusión se plantea intervenir en distintos niveles de escolaridad, dependiendo del público objetivo y el aporte de las investigaciones al conocimiento científico y sus aplicaciones en campo. En primera instancia, la elaboración de manuscritos para publicar en revistas científicas indexadas y de impacto tanto nacionales como internacionales, como una estrategia de verificación por parte de pares externos que garanticen la calidad del trabajo desarrollado y sobre la base de ese aporte científico del más alto nivel producir documentos de divulgación con nivel técnico accesible a productores nacionales, profesionales del sector público y académico y estudiantes en formación técnica y universitarias en áreas afines al sector agropecuario (panfletos, trípticos, etc). También se utilizarán mecanismos de divulgación no científicos para informar sobre los avances de investigación, basados en TIC's (redes sociales) que permitan poner en conocimiento a la sociedad en general los diferentes trabajos de investigación, en un idioma sencillo y comprensible. Se realizarán 2 talleres de capacitación de las diferentes técnicas desarrolladas y sus resultados: el primero será de difusión de resultados para técnicos, estudiantes y productores y el segundo será un taller de capacitación para técnicos de laboratorio en el LABMA. Además se harán presentaciones en diversos congresos nacionales e internacionales y en las ferias más importantes del país.

11 COSTOS DEL PROYECTO B/.90 000.00 ver Anexo

12 IMPACTO

Impacto en la información del Valor Genético Estimado por animal

Los productores y técnicos podrán obtener información de germoplasma con genes adaptados a temperaturas altas, genes tolerantes a enfermedades, genes de calidad de carne y genes de calidad de leche que estas razas presentan en su genoma. Al integrar esta información dentro de los programas de selección, el criador podrá incrementar el valor de sus animales al menos en un 10% más del valor original.

Impacto en la resiliencia socio ecológica

El impacto económico que representa el uso de tecnologías de bajo insumo es alto, particularmente en la actualidad donde la variación climática requiere nuevas estrategias de manejo genético, manejo de insumos agrícolas y manejo sanitario en los sistemas productivos del país con el menor uso de agroquímicos. En este caso se espera reducir al menos 5% en los costos de los insumos al utilizar animales mejor adaptados y más resistentes a las enfermedades y parásitos.

Impacto en la protección y uso de la biodiversidad local

El estudio continuo de estas razas con alta variabilidad genética, así como las razas adaptadas localmente permitirá preservar un germoplasma para enfrentar las demandas de mercado y cambios en los sistemas de producción atribuidos a la variación climática. Otro impacto que producirá el proyecto es contribuir a la resolución de controversias en casos de hurto pecuario, control de filiación y trazabilidad genética, teniendo la información individualizada y única por cada animal.

Impacto en el acceso y distribución de los recursos genéticos panameños

Con los avances en la genómica y la identificación de genes de importancia en la producción nacional, también habría un impacto en las políticas nacionales relacionadas a la Convención de Diversidad Biológica y el Protocolo de Nagoya donde se contempla la regulación de la transferencia física de material genético o biológico tangible de un país proveedor a un usuario, de conformidad con un acuerdo con ABS. Tomando en cuenta que el genoma de una especie en particular puede secuenciarse dentro de un país y esa información puede transferirse digitalmente a una empresa o entidad de investigación para descargarla a un sintetizador de ADN es de gran importancia la identificación y custodia de esas secuencias digitales por parte de los investigadores y agentes de manejo de esta información. Aunque no ha sido definido porcentaje de beneficio, el país que utilice una mejora genética obtenida del país propietario del germoplasma, deberá pagar una compensación por las ganancias obtenidas derivadas de la mejora genética

13 ARTICULACIÓN CON OTROS ACTORES

Este nuevo proyecto, Estudios Genómicos de los Recursos Zoogenéticos y su interacción con efectos bióticos y abióticos permitirá enfocarse con mayor intensidad en las tecnologías de ADN y reforzar las redes de investigación a nivel global a la que IDIAP participa (Red Conbiand, Proyecto Biobovis, Rare Breeds International, International Society of Animal Genetics) donde se realizan trabajos colaborativos y foros de discusión, también se mantienen alianzas estratégicas con gremios de

productores quienes aportan sus fincas como sitios de muestreo de distintos grupos de animales adaptados localmente (Asociación de Productores de Llanos de Tugrú, Asociación de Productores de Leche de Provincias Centrales APLEPLC, Asociación de Productores de Ganado Lechero de Panamá APROPGALPA, Asociación Nacional de Ganaderos ANAGAN); con instituciones públicas (MIDA, Dirección de Ganadería, INA, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Veterinaria) con quienes se realizarán trabajos de capacitación. Igualmente se ha logrado crear fortalezas con instituciones como el Instituto de Medicina legal, el Instituto Conmemorativo Gorgas en el área de genética molecular y de poblaciones y salud animal.

14 POSIBLES RIESGOS:

- Disponer de los recursos solicitados durante el período de ejecución del proyecto (personal técnico especializado, equipamiento, viáticos, vehículos)
- Preservar el personal técnico entrenado y especializado requerido por el proyecto.
- Que existan recursos financieros para el mantenimiento de los equipos existentes.
- Que los productores mantengan el interés en la ejecución del proyecto.
- Que se produzcan pérdidas de germoplasma por causas no controlables por lo responsables del proyecto.

15 VINCULACIÓN CON ÁREAS PRIORITARIAS NACIONALES E INSTITUCIONALES

El proyecto se vincula con lo establecido en el Plan Estratégico 2017-2030 en la contribución del instituto con la seguridad alimentaria en la producción de alimentos a bajo costo como es el caso de la carne y leche con poco uso de agroquímicos, por el número de actores potencialmente involucrados en la cadena productiva de este rubro y su impacto a nivel de la economía rural y el turismo ecológico. Además de vincularse con las políticas del estado para el sector agropecuario como lo son la reducción de los costos de la canasta básica familiar y la trazabilidad.

Anexo 1: Costos Globales Anuales por Actividad

N° ACTIVIDAD	TITULO O ACTIVIDAD	2020	2021	2022	2023	2024	TOTAL
1	Estructura y diversidad genética de razas locales e introducidas mediante NGS y marcadores SNP.	4,000.00	4,000.00	4,000.00	4,000.00	0.00	B/. 16,000.00
2	Genotipificación de razas bovinas lecheras mediante marcadores <i>DGAT1</i> , <i>CSN1S1</i> , <i>CSN1S2</i> , <i>LALBA</i> , <i>GH1</i> y <i>ABCG2</i> .	2,500.00	2,500.00	2,500.00	2,000.00	0.00	B/. 9,500.00
3	Genotipificación de razas bovinas de carne mediante marcadores <i>MSTN42</i> , <i>MSTN80</i> , <i>MSTN99</i> y <i>TG</i> .	2,500.00	2,500.00	2,500.00	2,000.00	0.00	B/. 9,500.00
4	Identificación de marcadores asociados a desórdenes genéticos en razas bovinas localmente adaptadas e introducidas.	2,000.00	2,000.00	2,000.00	500.00	0.00	B/. 6,500.00
5	Caracterización molecular de comunidades microbianas en el tracto reproductivo de vacas criollas y lecheras en Panamá	9,000.00	5,000.00	4,000.00	4,000.00	0.00	B/. 22,000.00
6	Identificación del gen mutante slick del receptor de prolactina PRLR en razas Guaymí, Guabalá, Senepol y sus cruces.	3,000.00	3,000.00	2,000.00	500.00	0.00	B/. 8,500.00
7	Caracterización molecular del HSP razas bovinas criollas y localmente adaptadas	3,000.00	2,500.00	2,000.00	500.00	0.00	B/. 8,000.00
8	Frecuencia alélica de gen BoLA-DRB3.2 y polimorfismos asociados a resistencia al virus de leucosis enzootica bovina.	4,000.00	2,500.00	2,000.00	1,500.00	0.00	B/. 10,000.00
	Totales	30,000.00	24,000.00	21,000.00	15,000.00	0.00	B/. 90,000.00

Anexo 2: Costos Globales Anuales por Objeto de Gasto

PROYECTO: Estudios Genómicos de los Recursos Zoogenéticos y su interacción con efectos bióticos y abióticos						
Programa: Investigación - Innovación En Recursos Genéticos y Biodiversidad						
Sub programa: Investigación - Innovación para la valoración y conservación del recurso genético		M O N T O A N U A L				
Objeto de gasto	DESCRIPCIÓN DEL OBJETO DEL GASTO	2020	2021	2022	2023	TOTAL
141	Viáticos dentro del país	1,500.00	1,500.00	1,500.00	1,500.00	B/. 6,000.00
182	Reparación de Maquinaria y Equipos	1,500.00	2,000.00			B/. 3,500.00
183	Mantenimiento y rep. de equipo de Computo	2,000.00	6,000.00	6,000.00	5,000.00	B/. 19,000.00
189	Otros mantenimientos y reparaciones	8,000.00	4,000.00	4,000.00		B/. 16,000.00
201	Alimento para consumo. humano	700.00	500.00	500.00	500.00	B/. 2,200.00
231	Impresión, Encuadernación y Otros	0.00	500.00	500.00	500.00	B/. 1,500.00
232	Papelería	100.00	200.00	100.00	100.00	B/. 500.00
249	Otros productos químicos	0.00	400.00	300.00	300.00	B/. 1,000.00
265	Materiales y Suministros de Computadora	0.00	500.00	200.00	200.00	B/. 900.00
273	Útiles de aseo y limpieza	0.00	200.00	300.00	300.00	B/. 800.00
274	Útiles y Materiales Médicos de laboratorio	15,000.00	7,000.00	6,400.00	6,400.00	B/. 34,800.00
275	Útiles y Materiales de Oficina	200.00	200.00	200.00	200.00	B/. 800.00
380	Equipo de computación	1,000.00				B/. 1,000.00
624	Adiestramiento y estudio	0.00	1,000.00	1,000.00		B/. 2,000.00
	Totales	30,000.00	24,000.00	21,000.00	15,000.00	B/. 90,000.00