

XVII

Simposio iberoamericano
sobre conservación y
utilización
de recursos zoogenéticos
9, 10 y 11 de noviembre de 2016
Corrientes, Argentina.

DISEÑO DE UN PANEL DE MARCADORES MICROSATELLITES PARA ESTUDIOS DE BIODIVERSIDAD EN EL PAVO DOMESTICO (M E L E A G R I S G A L L O P A V O)

Canales A.*, Landi V., Camacho M.E., Martínez A., Cervantes P., Sponenberg P.,
Mostafa H. , Hossein B., Starčević K., Daniele B., Delgado J.V.



EL PAVO Y SUS ORIGENES

El pavo domestico actual (*Meleagris gallopavo*) provienen de sus ancestros cruzaron el Estrecho Bering cuando Alaska estuvo conectado con Eurasia



EL PAVO EN LA VIDA ACTUAL

FIESTAS



CRIANZA



PLATOS TÍPICOS



NAVIDAD Y AÑO NUEVO



CUMPLEAÑOS



OBJETIVOS PRINCIPALES

- 1.- Determinar un panel de microsatélites específico, para los estudios de biodiversidad de los pavos, panel que deberá cumplir los requerimientos técnicos internacionales.
- 2.- Caracterizar genéticamente poblaciones de pavos tradicionales ibéricos y el guajolote Criollo con la intención de dar soporte técnico a un eventual reconocimiento oficial.
- 3.- Definir las relaciones filogenéticas de las poblaciones españolas de pavos con las razas representantes de los focos originarios de domesticación en México y Los Estados Unidos y otras poblaciones.

MATERIALES Y METODOS

MUESTRAS DE PAVOS

MEXICO , ESPAÑA, ESTADOS UNIDOS
BRASIL, ITALIA, CROACIA, EGIPTO,
IRAN



- 1 Saint Vincent and the Grenadines
- 2 Saint Lucia
- 3 Saint Kitts and Nevis
- 4 Antigua and Barbuda
- 5 Dominica
- 6 Grenada

- 11 Democratic Republic of the Congo
- 12 Equatorial Guinea
- 13 São Tomé and Príncipe
- 14 Doria



7 Macedonia 8 Montenegro 9 Serbia 10 Doria and Hungary

MUESTRAS DE SANGRE Y ADN

Algunas de las muestras de biológicas que se recibieron de los países que están participando en la presente investigación son en papel filtro con sangre o ADN en tubos de EDTA con sangre, para su extracción en el laboratorio



MATERIALES Y METODOS

COLA M13

- *Se modifica* la secuencia *del FORWARD* añadiendo la cola "M13" en direccion 5' . Tiene alrededor de 18 a 20 parejas de base.

5'- ACG ACG TTG TAA AAC GAC + primer sequence -3'

M13 primers are labeled with fluorescent dyes.

- FAM (Blue) 5'- FAM-ACG ACG TTG TAA AAC GAC -3'
- VIC (Green) 5'- VIC-ACG ACG TTG TAA AAC GAC -3'
- NED (Yellow) 5'- NED-ACG ACG TTG TAA AAC GAC -3'
- PET (Red) 5'- PET-ACG ACG TTG TAA AAC GAC -3'

VENTAJAS DE M13

VENDEDOR	MARCADO	M13
INVITROGEN	100	37
ALPHADNA	36	22.3

COSTE TOTAL PRIMER CALSICOS

INVITROGEN: 30PAREJASX100=3000EURO

ALPHADNA: 36X30=1080EURO

COSTE TOTAL PRIMER M13:

INVITROGEN: 30X36= 1100EURO+400EURO M1 3 FLUORECENTE=1500

ALPHADNA:22.3X30=669EURO+144 M13 FLUORECENTE=813

Programa de Ciclo de PCR

MIX PCR	
OLIGOS	F(0,002) R(0,004)
AGUA	5.38 MICROLITROS
TAQ	.25microlitros
DNTP	.25 microlitros
MAGNESIO	1.62 microlitros
BUFFER 10X	2.5 microlitros
ADN	5 microlitros

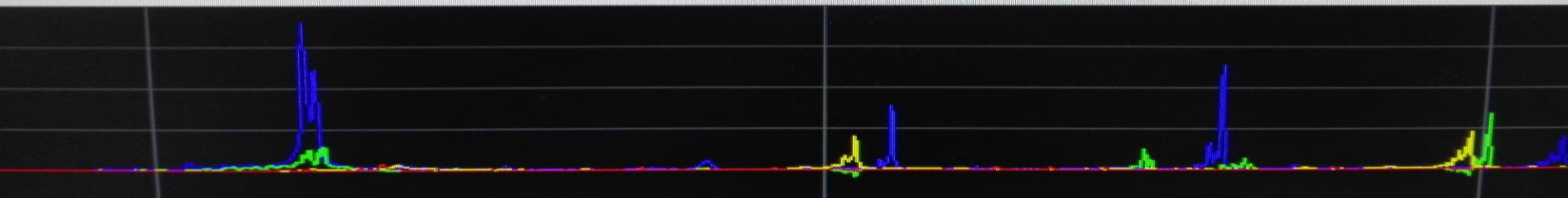
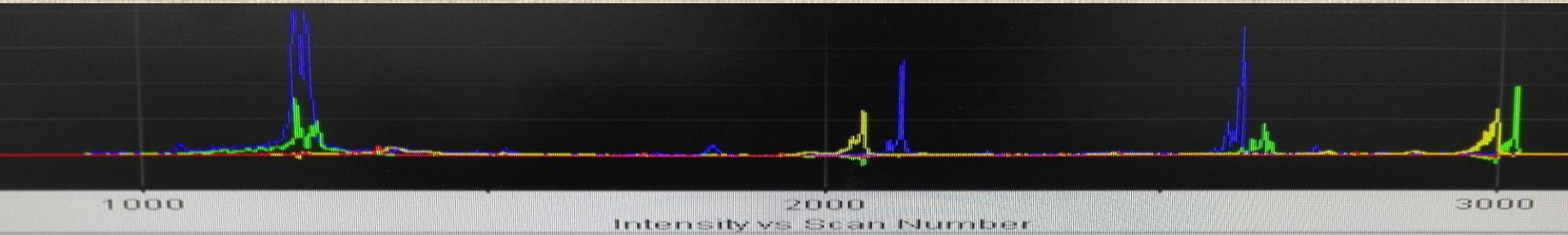
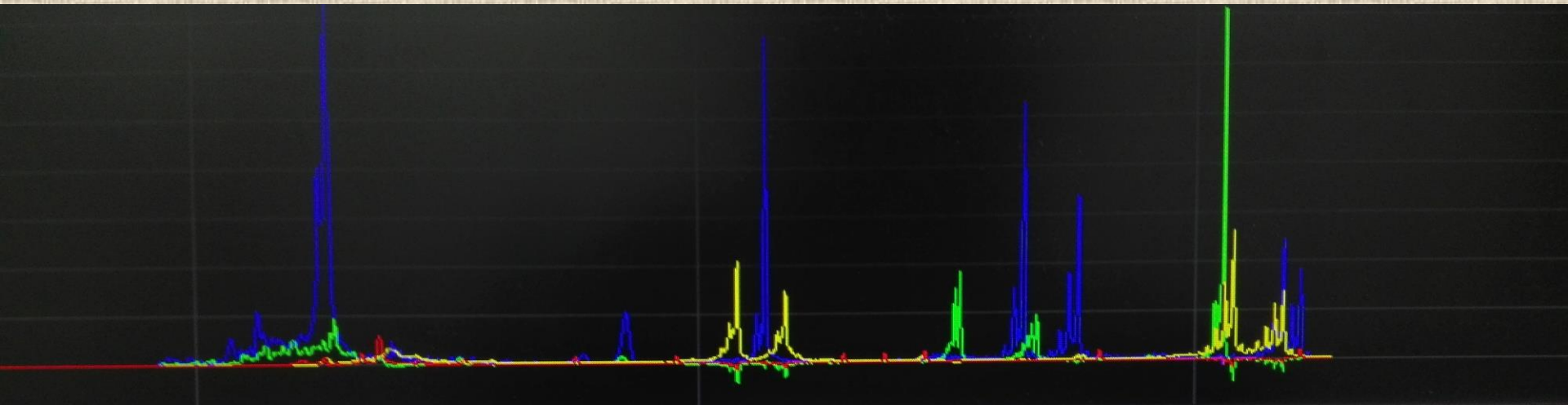
CICLO PCR	
DESNATURALIZACION	95 °C
ALINEAMIENTO Y EXTENSION x (33)	95°C (45 seg) 59°C (1min) 72°C (1min)
ELONGACION FINAL	72°C (59min)
Se trabaja con matriz de 5 colores utilizando Orange size standard	15 microlitros de orange en 1 ml. de formamida

Panel de microsátélites.

Nombre	R.A	Color
WT83	171-186	FAM
MNT353	190-203	FAM
MNT318	204-221	FAM
TUM20	299-345	FAM
MNT264	178-191	NED
MNT258	219-243	NED
MNT360	244-271	NED
MNT305	200-217	NED
MNT288	313-334	NED
MNT247	154-201	VIC
MNT274	248-265	VIC
MNT343	335-384	VIC
MNT282	145-170	PET
MNT321	229-259	PET
WT54	276-297	PET

Nombre	R.A.	Color
WT90	187-224	FAM
RHT024	225-248	FAM
MNT374	250-278	FAM
MNT331	295-317	FAM
MNT391	167-200	NED
MNT266	223-258	NED
MNT295	297-316	NED
RHT009	342-352	NED
MNT411	196-233	VIC
MNT348	261-282	VIC
MNT297	296-330	VIC
MNT294	165-193	VIC
RHT0216	165-197	PET
MNT389	241-277	PET
MNT386	311-342	PET

Electroforesis



RESULTADOS

- Los microsatélites seleccionados amplificaron con los ciclos de PCR antes expuestos.
- La cola M13 demostró una técnica poderosa para el estudio de microsatélites en múltiplex permitiendo la separación eficiente de loci y una vía económica para análisis genéticos.
- Todos los marcadores genéticos fueron polimorficos, a excepción del MNT 305 que presento algunos problemas de amplificación.

Se continuan los estudios de las diferentes muestras que siguen llegando de los paises participantes



GRACIAS