

## Bibliografía

- American Angus Association 13/03/2019. World Wide Web URL: <http://www.angus.org/>
- Dutra F. (2016). Monstruosidades y enfermedades genéticas de los bovinos en Uruguay. Su importancia y significado. XLIV Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú. Uruguay 41-50. OMIA 002135-9913
- Whitlock BK. (2010). Heritable Birth Defects in Cattle. Applied Reproductive Strategies Conference Proceedings. Nashville, TN 146-151.
- Windsor P, Kessell A, Finnie J. (2011). Neurological diseases of ruminant livestock in Australia. V: congenital neurogenetic disorders of cattle. Aust Vet J 89:394-401.
- Online Mendelian Inheritance in animals, OMIA Faculty of Veterinary Science, University of Sidney, 13/03/2019. World Wide Web URL: <https://omia.org/OMIA002135/9913/>

## Mutaciones letales y semiletales en terneros Holando de Uruguay.

**Carolina Briano<sup>1\*</sup>, Agustín Romero<sup>1</sup>, Andrea Branda Sica<sup>2</sup>, María Teresa Federici<sup>2</sup>, Marco Dalla Rizza<sup>2</sup>, Silvia Llambí<sup>4</sup>, Federico Giannitti<sup>3</sup>, Rubén Darío Caffarena<sup>3</sup>, Carlos Omar Schild<sup>3</sup>, María Laura Casaux<sup>3</sup> y Fernando Dutra Quintela<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup> DILAVE – Regional Este. \*Autor de correspondencia: [cbriano@mgap.gub.uy](mailto:cbriano@mgap.gub.uy) - <sup>2</sup> INIA “Las Brujas”;

<sup>3</sup> INIA “Las Estanzuela” - <sup>4</sup> Facultad de Veterinaria-Área Genética, Universidad de la República.

## Resumen

El objetivo de este trabajo fue investigar la presencia y difusión de mutaciones letales/semiletales causantes de mortalidad embrionaria, abortos y mortalidad perinatal en terneros de la cuenca lechera suroeste de Uruguay. Muestras de sangre de 383 terneros neonatos de 27 tambos de la cuenca lechera suroeste, obtenidas en 2016, se sometieron a extracción de ADN y genotipado. Los resultados mostraron una prevalencia alta de tambos afectados (85%), una variedad de mutaciones presentes en la población muestreada (9), algunas de las cuales no se habían reportado previamente

en Uruguay (CDH y HH5), y una alta frecuencia de animales heterocigotos para una o más mutaciones letales o semiletales (1 de cada 5 terneros, 20%). Los resultados sugieren que las enfermedades genéticas son una causa importante de pérdidas reproductivas en el ganado lechero de Uruguay.

## Summary

The aim of this work was to investigate the presence and diffusion of mutations causing embryonic mortality, abortions and perinatal mortality in calves from the southwest dairy area in Uruguay. Blood samples were analyzed from 383 neonatal calves from 27 dairy

farms in the southwest of Uruguay, sampled in 2016. The results showed a high prevalence of affected dairy farms (85%), a variety of mutations present in the population (9), some of them had not been reported previously in Uruguay (CDH and HH5), and a high number of animals that are heterozygous for one or more lethal or semi-lethal mutations (1 of 5). The results suggest that genetic diseases are an important cause of reproductive losses in dairy cattle in Uruguay.

## Introducción

En Uruguay, como en el resto del mundo, la selección genética es una de las principales herramientas para aumentar la producción láctea. El uso de inseminación artificial y otras tecnologías reproductivas ha permitido la rápida incorporación y diseminación de líneas genéticas de alta producción en el rodeo lechero nacional (Meikle et al., 2013). El uso de un reducido número de toros seleccionados por producción, sin tener en cuenta rasgos reproductivos o indicadores de salud, tiene como consecuencia la reducción de la diversidad genética y de alelos específicos que favorecen los rasgos de supervivencia (Rodríguez-Martínez et al., 2008). Como resultado, las enfermedades genéticas en ganado lechero han crecido exponencialmente y la fertilidad, el vigor y la longevidad de las vacas se han reducido en la mayoría de los países productores de leche (Rodríguez-Martínez et al., 2008). En Uruguay, la tasa de preñez del ganado bovino lechero ha caído en un 20-30% y el intervalo parto-concepción aumentado de 131 a 150 días (Meikle et al., 2013). Se han reportado varias anomalías hereditarias que causan mortalidad embrionaria o fetal, nacimientos de terneros malformados o inmunodeprimidos y mortalidad neonatal (Federici 2018; Branda 2016; Kelly 2012; Llambí 2002). La mayoría de estas anomalías hereditarias son causadas por genes autosómicos recesivos. Se expresan si ambos alelos recesivos están presentes (homocigosis), por lo que se reconoce cuando la frecuencia de los genes es alta y está fijada en la población. El objetivo de este trabajo fue investigar la presencia y difusión de mutaciones causantes de mortalidad embrionaria, abortos y mortalidad neonatal en terneros de la cuenca lechera suroeste de Uruguay.

## Materiales y Métodos

Se muestrearon, en el 2016, 383 terneros neonatos (<30 días), prácticamente todos de raza Holando, de 27 tambos de la cuenca lechera suroeste de Uruguay. Se extrajo sangre entera por venopunción yugular utilizando agujas estériles y tubos con heparina de litio (Vacutainer®). Las muestras se transportaron al laboratorio y se almacenaron a -20°C hasta su procesamiento. Para la extracción de ADN se utilizó un kit comercial (MagMAX™ -96DNA Multi-Sample Kit). El ADN extraído se remitió a Neogen GeneSeek, Lincoln, Nebraska, EEUU para su genotipado usando el GeneSeek Genomic Profiler (GGP) Bovine 50K Bead Chip. La información generada para más de las 60 mutaciones letales y semi-letales de bovinos incluidas en el chip fue analizada. Para asegurar la calidad de los datos, solo las mutaciones con un Call Rate >90% fueron consideradas en el análisis. Las frecuencias alélicas ( $p$  y  $q$ ) se estimaron utilizando la ecuación de Hardy-Weinberg suponiendo que los dos genotipos observados (normal y portador) son correctos (Rodríguez y col., 2009).

## Resultados y Discusión

Se destaca la alta frecuencia de terneros portadores de al menos una mutación letal o semiletal (21,4%), la alta frecuencia de predios afectados (85,2%) y la variedad de mutaciones encontradas (9 en total; Tabla 1). Para una frecuencia alélica de 0,12 y una población de 425000 vacas lecheras servidas anualmente en Uruguay, las muertes embrionarias, fetales y perinatales pueden estimarse (Rodríguez y col., 2009) en más de 6190 animales/año, pérdida probablemente más alta que cualquier otra etiología considerada individualmente.

**Tabla 1.** Mutaciones detectadas en la población de estudio (PI: Prevalencia individual, PP: Prevalencia predial, FA: Frecuencia alélica).

MUTACION	PI % (N°)	PP % (N°)	FA
Sindactilia (SN)	4,18 (16)	22,22 (4)	0,02
Haplotipo Holando 1 (HH1)	4,44 (16)	29,63 (8)	0,02
Braquiespina (BY)	3,39 (13)	25,93 (6)	0,02
Haplotipo Holando 3 (HH3)	3,13 (12)	29,63 (8)	0,02
Deficiencia colesterol (CDH)	2,61 (10)	14,81 (4)	0,01
Complejo Malformación Vertebral (CVM)	2,09 (8)	14,81 (4)	0,01
Haplotipo Holando 4 (HH4)	1,04 (4)	11,11 (2)	0,001
deficiencia de adhesión leucocitaria bovina (BLAD)	1,04 (4)	14,81 (4)	0,01
Haplotipo Holando 5 (HH5)	0,26 (1)	3,70 (1)	0,01
<b>Total GENERAL</b>	<b>21,4%</b>	<b>85%</b>	<b>0.12</b>

De los 383 terneros examinados, 8 eran portadores de CVM y 13 de BY, mutaciones ambas que en estado de homocigosis afectan el desarrollo vertebral y hacen inviable la progenie. Se detectaron 10 terneros portadores de CDH en 4 predios diferentes; esta causa diarreas y muertes neonatales (Schütz y col., 2016) y es, según creemos, la primera vez que se reporta en Uruguay. Cuatro terneros en 4 predios diferentes eran portadores de BLAD, mutación que causa inmunosupresión y muerte por infecciones secundarias. Había 16 animales con la mutación-241 de SN (3 homocigotos y 13 portadores) en 7 predios diferentes. También se observó una amplia difusión de los haplotipos HH1, 3, 4 y 5, siendo esta última el primer reporte en Uruguay. Estos haplotipos son una causa importante de mortalidad embrionaria en todo el mundo (Schütz 2016). A pesar de la diferencia en categorías (vacas y toros pedigrí) y tamaño de las poblaciones analizadas (5078 vs 383), la frecuencia de HH1, 3 y 4 es muy similar a la reportada por López y col. (2018), lo que seguramente es explicable por el principio de aleatorización mendeliana (Rodríguez y col., 2009). No se detectaron portadores de DUMPS ni CT, en coincidencia con trabajos previos (Branda y col. 2016, Federici y col. 2018).

## Conclusiones

Las mutaciones responsables de las enfermedades hereditarias analizadas están ampliamente difundidas y se puede anticipar que probablemente estén generando importantes

pérdidas para la ganadería lechera de Uruguay. Se recomienda analizar los reproductores para evitar la propagación no deseada de estos genes defectuosos en la población. Si bien la eliminación sería la medida más rápida para reducir la frecuencia de estos genes, muchos animales de alto valor podrían ser afectados por lo que se recomienda la realización de apareamientos dirigidos de modo que no se obtenga descendencia homocigota (por ejemplo, cruzando toros heterocigotos sólo con vacas homocigotas de tipo salvaje). Esta medida ya se practica en países como Alemania atendiendo a la producción y al bienestar animal (Schütz et al. 2008).

El impacto económico y productivo de las enfermedades hereditarias de ganado lechero en Uruguay merece ser investigado en mayor profundidad.

## Bibliografía

- Branda Sica A., Federici M.T., Dutra F., Romero A., Briano C., Dalla Rizza M., Llambí S. (2016) Identificación de terneras Holando portadoras de BLAD y Citrulinemia en la región Este de Uruguay por PCR- RFLP and sequencing Revista Veterinaria (Montevideo) N°202 p23-27
- Dutra F. (2016). Monstruosidades y enfermedades genéticas de los bovinos en Uruguay. Su importancia y significado. XLIV Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay, 41-50.
- Federici, M.T., Branda Sica A., Artigas, R., Briano, C., Dutra, F., Llambí, S. (2018) Análise

da curva de alta resolução (HRM): nova abordagem usada para detectar BLAD e DUMPS em bovinos da raça Holandesa Uruguaia. *Archives of Veterinary Science*. v.23, n.4, p.01-09 ISSN: 1517-784

• Kelly L, Dutra F, Llambí S, Rivero R, Moraes J, Trenchi G, D'Agosto S, Peraza P, Ravagnolo O, Dalla Rizza M. (2012). Diagnóstico molecular de enfermedades hereditarias bovinas en el Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)* 48:3-11.

• Llambi Dellacasa, S. (2002). Estudios citogenéticos-moleculares de la fragilidad del cromosoma sexual X y enfermedades hereditarias monogénicas en bovinos de la raza Holando Uruguayo (*Bos Taurus*). Tesis Doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, España, 146pp.

• Lopez Correa R., Carracela B., Peraza P., Narvaja E., Ravagnolo O., Aguilar I. (2018). Analisis del control de calidad de datos genómicos en ganado lechero Uruguayo. Poster AUPA

Lucy M.C. (2001) Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End? *J. Dairy Sci.* 84:1277-1293

• Meikle A, Cavestany D, Carriquiry M, y col. (2013). Avances en el conocimiento de la vaca lechera durante el período de transición en Uruguay: un enfoque multidisciplinario. *Agrociencias Uruguay*, 17(1):141-152.

• Rodriguez S, Gaunt T. & Day I. (2009). Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol* 169(4):505-514.

• Rodriguez-Martinez H, Hultgren J, Båge R, Bergqvist AS, Svensson C, Bergsten C, Lidfors L, Gunnarsson S, Algers B, Emanuelson U, Berglund B, Andersson G, Håård M, Lindhé B, Stålhammar H, Gustafsson H. (2008). Reproductive performance in high-producing dairy cows: can we sustain it under current practice. *IVIS Reviews in Veterinary Medicine*, 1(108), 1-23.

• Schütz E, Scharfenstein M, Brenig B. (2008). Implication of Complex Vertebral Malformation and Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency DNA-Based Testing on Disease Frequency in the Holstein Population American Dairy Science Association. *Journal of Dairy Science*, 91: 4854-4859.

• Schütz E, Wehrhahn C, Wanjek M, Bortfeld R, Wemheuer WE, Beck J, et al. (2016) The Holstein Friesian Lethal Haplotype 5 (HH5) Results from a Complete Deletion of TB-F1M and Cholesterol Deficiency (CDH) from an ERV-(LTR) Insertion into the Coding Region of APOB. *PLoS ONE* 11(4): e0154602. doi:10.1371/journal.pone.0154602